

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1935-1936

N°

LE DOSAGE DE L'ADRÉNALINE

DANS LES

CAPSULES SURRÉNALES

TECHNIQUE ET RÉSULTATS

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME DE

Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)

présentée et soutenue le

1936

PAR

Jeanne LANXADE

Lauréate de la Faculté de Pharmacie de Paris

Interne des Asiles de la Seine

Diplômée de l'Ecole de Sérologie

de la Faculté de Médecine de Paris

JURY { MM. FABRE, *Président.*
HÉRISSEY, *Professeur.*
FLEURY, *Agrégé.*

PARIS

JOUBE & C^e, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1936

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1935-1936

N°

LE DOSAGE DE L'ADRÉNALINE DANS LES CAPSULES SURRÉNALES TECHNIQUE ET RÉSULTATS

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME DE

Docteur de l'Université de Paris (PHARMACIE)

présentée et soutenue le 1936

PAR

Jeanne LANXADE

Lauréate de la Faculté de Pharmacie de Paris
Interne des Asiles de la Seine
Diplômée de l'Ecole de Sérologie
de la Faculté de Médecine de Paris

JURY { MM. FABRE, *Président.*
HÉRISSEY, *Professeur.*
FLEURY, *Agrégé.*

PARIS

JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1936

Personnel de la Faculté de Pharmacie de Paris

ADMINISTRATION

MM. GUÉRIN, *Doyen*, O. ✱, ☉ I.
P. LEBEAU, *Assesseur*, O. ✱, ☉ I.
P. DESPORT, *Secrétaire*, ✱, ☉ I.

PROFESSEURS

MM. GUÉRIN, O. ✱, ☉ I.	Botanique générale.
PERROT, O. ✱, ☉ I.	Histoire naturelle des Médicaments.
COUTIÈRE, O. ✱, ☉ I.	Zoologie.
LEBEAU, O. ✱, ☉ I.	Pharmacie chimique.
BOUGAULT, O. ✱, ☉ I.	Chimie analytique.
GORIS, O. ✱, ☉ I.	Pharmacie galénique.
TASSILLY, O. ✱, ☉ I.	Physique.
DAMIENS, ✱, ☉ I.	Chimie minérale.
HÉRISSEY, O. ✱, ☉ I.	Chimie biologique.
SOMMELET, ✱, ☉ I.	Chimie organique.
LUTZ, ✱, ☉ I.	Cryptogamie et Microbiologie.
FABRE, ✱, ☉ I.	Toxicologie.
LAUNOY, O. ✱, ☉ I.	Professeur sans chaire.

Doyen honoraire : M. RADAIS, O. ✱, ☉ I.

Professeurs honoraires :

MM. BÉHAL, G. O. ✱, ☉ I, et DELÉPINE, O. ✱, ☉ I, membres de l'Institut,
et GUERBET, ✱, ☉ I.

CHARGÉS DE COURS

MM. MARC HONNORAT, ✱, ☉ I.	Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LAUNOY, O. ✱, ☉ I.	Pharmacodynamie.
DELABY, ✱, ☉ I.	Hydrologie et Hygiène.
PICON, ☉ I.	Chimie minérale
BACH, ☉ I.	Microbiologie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. DELABY, ✱, ☉ A.	MM. MASCRÉ, ☉ I.	MM. BEDEL, ☉ I.
PICON, ☉ I.	FLEURY, ☉ I.	RÉGNIER, ☉ I.
	BACH, ☉ I.	

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. BEDEL, ☉ I., <i>agrégué</i> , chargé des T. P. de 1 ^{re} année	Chimie générale.
FLEURY, ☉ I. et RÉGNIER, ☉ I. : <i>agrégués</i> , chargés des Travaux de	Chimie analytique.
SOUÈGES, ☉ I.	Micrographie.
LEROUX, ✱, ☉ I.	Physique.
DEVAL, ✱, ☉ I.	Microbiologie.
DELABY, ✱, ☉ I., PICON, ☉ I. et MASCRÉ, ☉ I. : <i>agrégués</i> , chargés des Travaux généraux de 4 ^e année	

Bibliothécaire en Chef : M. BERNARD, ☉ I.



A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

LE VICE-AMIRAL LANXADE

A MA MÈRE

A M. LE PROFESSEUR LÉON BINET

Professeur de Physiologie à la Faculté de Médecine de Paris
Officier de la Légion d'honneur

*Qui a bien voulu nous accueillir dans son
laboratoire, en témoignage de notre profonde
gratitude.*

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE PROFESSEUR RENÉ FABRE

Professeur de Toxicologie à la Faculté de Pharmacie
et à l'Institut d'Hygiène industrielle et de Médecine du Travail
de la Faculté de Médecine de Paris
Pharmacien-Chef des Hôpitaux de Paris
Chevalier de la Légion d'Honneur

En témoignage de notre respectueuse reconnaissance:

A M. LE PROFESSEUR HENRI HERISSEY

Professeur de Chimie biologique à la Faculté de Pharmacie
Pharmacien-Chef des Hôpitaux de Paris
Officier de la Légion d'honneur

A M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ PAUL FLEURY

Pharmacien-Chef des Asiles de la Seine

Avec l'expression de notre vive gratitude.

A M. GEORGES WELLER

Assistant à la Faculté de Médecine de Paris

*Qui a bien voulu nous guider de ses conseils,
avec l'expression de nos très vifs remercie-
ments.*

A TOUS NOS CAMARADES DU LABORATOIRE
DE PHYSIOLOGIE

A M. LÉON BRUNEL

Pharmacien-Chef de l'Hospice Paul-Brousse
Chevalier de la Légion d'honneur

En témoignage de notre profond respect.

LE DOSAGE DE L'ADRÉNALINE DANS LES CAPSULES SURRÉNALES

TECHNIQUE ET RÉSULTATS

INTRODUCTION

Depuis que A. Vulpian, au milieu du xix^e siècle, a démontré que l'extrait des glandes surrénales et que le sérum sanguin des veines efférentes présentaient certaines réactions spécifiques, la biochimie des glandes surrénales a fait des progrès considérables. Les chimistes sont arrivés à isoler un principe nouveau, l'adrénaline, dont on a pu reconnaître les propriétés physiques, chimiques et physiologiques.

A l'heure actuelle, ces propriétés sont parfaitement déterminées. Il reste pourtant encore diverses questions à résoudre touchant et la biochimie et la physiologie des surrénales. L'origine et la localisation de l'adrénaline, le mécanisme de sa production et de son déversement dans le courant circulatoire, son rôle physiologique dans la vie de l'organisme, sa destruction sont autant de problèmes à l'ordre du jour dans les laboratoires de physiologie et qui présentent encore des lacunes à combler.

Dans cette étude, nous rapporterons les travaux que nous avons personnellement effectués sur le taux de l'adrénaline dans les surrénales. Par des procédés chimiques, nous avons déterminé le taux normal de l'adrénaline dans les glandes surrénales de chien. Nous avons effectué quelques travaux concernant l'origine de l'adrénaline et la réalité de l'adrénaline virtuelle. Nous avons étudié ensuite les variations du taux de l'adré-

naline chez le chien dans quelques cas particuliers tels que l'asphyxie et l'anoxémie, l'hyperthermie réalisée par le dinitrophénol 1. 2. 4., les états endocriniens expérimentalement provoqués : dépancréatectomie, thyroïdectomie, parathyroïdectomie.

Le travail que nous présentons a été effectué dans le laboratoire de Physiologie du Professeur Léon Binet, qui a bien voulu nous réserver un accueil dont nous lui sommes reconnaissante. M. Georges Weller nous a fait profiter de ses connaissances techniques et c'est grâce à sa précieuse collaboration que nous avons pu poursuivre nos recherches.

CHAPITRE I

Etude des méthodes de dosage de l'adrénaline dans les capsules surrénales.

Avant d'aborder ce travail, une question préliminaire se posait : quelle méthode de dosage de l'adrénaline fallait-il choisir ? Plusieurs s'offraient à nous, dont la plupart étaient présentées comme excellentes par différents auteurs. Le choix était difficile et son importance primordiale, car la valeur du travail dépendait avant tout de la valeur de la méthode adoptée.

Il nous a donc paru nécessaire de faire précéder nos recherches d'une étude des diverses méthodes de dosage de l'adrénaline déjà existantes. Quelques-unes de celles qui ont été publiées n'ont pas retenu longtemps notre attention parce que des auteurs on fait à leur sujet des critiques qui nous ont paru assez importantes et assez justifiées pour renoncer à leur emploi.

A. Vulpian [29] découvrit le premier plusieurs des réactions colorées de l'adrénaline ; plus exactement, il découvrit plusieurs réactions colorées présentées par l'extrait de surrénales. Ce n'est que plus tard que l'on attribua ces propriétés à l'adrénaline. C'est ainsi qu'il remarqua que les sels ferriques amènent la production d'une coloration verte, que l'iode produit une teinte rose carmin, que le chlore et le brome agissent de même, mais moins énergiquement, que la potasse, la soude, la baryte font apparaître aussi cette coloration si elles ne sont pas employées en excès.

Ce sont des réactions qualitatives. A. Vulpian n'a proposé aucun procédé d'appréciation quantitative.

Ce n'est qu'après la découverte de l'adrénaline par Takamine, en 1901, que furent publiées des méthodes de dosage du principe actif des glandes surrénales.

Méthode de F. Batelli au chlorure ferrique [9] (1902).

C'est une application de la réaction découverte par A. Vulpian. On la pratique ainsi :

a) *Extraction* : Elle se fait par macérations successives dans l'eau des surrénales broyées. Les liquides de macération sont réunis et portés à l'ébullition après addition d'acide acétique au 1/5 dans la proportion de une goutte pour 5 cm³. On filtre.

b) *Dosage proprement dit*. L'addition de Cl^3Fe à l'extrait fait apparaître une coloration verte. On effectue la réaction sur des dilutions de plus en plus fortes de l'extrait, jusqu'à ce que la coloration n'apparaisse plus parce que la limite de sensibilité de la réaction est atteinte.

F. Batelli exprime le résultat en unités FeCl^3 qu'il définit ainsi : « J'appelle unité FeCl^3 un centimètre cube de liquide qui possède la dilution limite. »

CRITIQUE. — M. Paget [24] a exprimé les reproches que l'on peut adresser à cette méthode :

1° *Mode d'extraction* : l'extraction ne peut être complète qu'en milieu acide, l'adrénaline se dissolvant très difficilement dans l'eau pure.

2° *Choix de la réaction* : La réaction au perchlorure de fer est assez fugace ; en outre, elle n'est pas spécifique de l'adrénaline. De très nombreux composés phénoliques donnent une coloration par le perchlorure de fer.

3° *Technique du dosage* : Elle est longue et compliquée et les causes d'erreur y sont multiples à cause des dilutions répétées. Il est difficile d'apprécier la teinte limite de la

réaction et la coloration propre du réactif est gênante. Enfin la façon d'exprimer les résultats est toute conventionnelle. Il serait préférable de les exprimer directement en adrénaline.

Méthode de A. Zangfrotnini [31].

Le réactif colorant est une solution de permanganate de potassium additionnée d'acide lactique.

L'extraction est faite par l'acide acétique à 2/1.000. Il est nécessaire de chauffer à 70°. L'extrait est ensuite décoloré par le sulfate d'ammonium.

CRITIQUE. — 1° *Extraction* : Le mode d'extraction est probablement insuffisant à cause de la faible acidité. Il est regrettable de faire cette extraction à chaud parce que l'adrénaline peut être altérée.

2° *Dosage proprement dit* : L'auteur n'indique pas comment on peut éliminer l'excès de réactif. Cependant sa coloration propre gêne l'appréciation des résultats.

Méthode de A. Seidell [27].

Seidell emploie une réaction voisine de celle de A. Zangfrotnini. L'agent colorant est le bioxyde de manganèse. C'est une méthode de dosage de l'adrénaline dans les poudres commerciales de glandes surrénales. Elle ne peut donc être employée sans modification pour les glandes fraîches. Elle présente en outre le défaut que la coloration produite n'est pas comparable à celle qui est obtenue avec une solution pure d'adrénaline. Il faut recourir à un étalon artificiel. L'adrénaline n'est donc pas la seule substance intervenant dans la réaction. Le même reproche pourrait sans doute être adressé à la méthode de A. Zangfrotnini.

Méthode de O. Folin, W.-B. Cannon et W. Denis [16].

Ces auteurs ont proposé en 1913 une méthode de dosage de l'adrénaline par leur réactif pour l'acide urique. Il donne une coloration bleue très intense avec l'adrénaline. Il possède toutefois un grave défaut, c'est sa non spécificité : il réagit en effet aussi avec l'acide urique, l'adrénalone, les polyphénols. P. Gley rapporte l'expérience suivante : « On prépare un extrait d'organe quelconque, thyroïde, foie, rein, etc..., et l'on fait sur cet extrait, d'une part la réaction de Folin, et d'autre part la réaction de l'iode. On constate que la seconde ne donne aucune coloration, tandis que la réaction de Folin donne avec intensité la magnifique coloration bleue, (soi-disant) caractéristique de la présence de l'adrénaline ». Une telle critique nous paraît suffisante pour renoncer à l'emploi de cette méthode.

En outre, l'extraction de l'adrénaline est effectuée à l'ébullition, ce qui, on le sait, peut altérer l'adrénaline.

Méthode de M. Paget [24].

Elle utilise la coloration brune que donne l'adrénaline avec le molybdate d'ammonium. M. Paget publie cette méthode pour le dosage de l'adrénaline dans les solutions commerciales, mais il conseille de ne pas l'appliquer aux glandes surrénales parce que la réaction n'est pas spécifique.

Trois autres méthodes ont retenu plus longuement notre attention, parce qu'elles nous ont paru suffisamment spécifiques, et parce que nous n'avons relevé contre elles aucune critique sérieuse. Nous en avons donc fait une étude plus approfondie.

Ces méthodes sont basées sur les réactions suivantes : réaction à l'iode, réaction au bichlorure de mercure et réaction au persulfate de potassium.

Réaction à l'iode

C'est la réaction signalée par A. Vulpian. Elle consiste en la production d'une coloration rouge-carmin lorsqu'on ajoute de l'iode à une solution aqueuse d'adrénaline.

Trois méthodes de dosage sont basées sur cette réaction :

Méthode de J.-E. Abelous, A. Soulié et G. Toujan [4].

Ces auteurs ont utilisé les premiers cette réaction, en 1905, pour le dosage de l'adrénaline. Leur technique est la suivante :

a) *Extraction* : Broyer 10 gr. de capsules surrénales avec du sable ; ajouter peu à peu 100 cm³ de sérum physiologique préalablement bouilli et maintenu à 40-50°. Ajouter quelques gouttes de ClH au 1/10 jusqu'à acidification très légère et faire bouillir pendant quelques secondes. Filtrer et épuiser le résidu par de l'eau distillée bouillante, de façon à obtenir 150 cm³ de filtrat. Ce filtrat est clair, incolore et ne renferme plus que des traces d'albumine.

G. Toujan [28] précise qu'il faut employer au maximum VI gouttes d'une solution de ClH au 1/10 pour 100 cm³ d'extrait.

b) *Dosage proprement dit* : Il se fait comparativement à une solution d'adrénaline à 0 gr. 10 p. 1.000. Ajouter 5 cm³ d'iode N/10. Abandonner pendant 15 minutes à la température du laboratoire.

Éliminer l'iode en excès par une solution d'hyposulfite N/10, soit en présence d'empois d'amidon, soit simplement jusqu'à disparition de la teinte jaunâtre de l'iode et apparition de la teinte rose. Un excès d'hyposulfite n'agit d'ailleurs en rien sur l'intensité de la teinte. Étendre chaque solution à un même volume (50 cm³).

Filtrer, s'il y a lieu, pour obtenir un liquide parfaitement clair. Cette précaution est indispensable pour les extraits, dans lesquels l'iode provoque un précipité.

Effectuer la comparaison au colorimètre aussitôt, ou dans un espace de temps ne dépassant pas une heure.

CRITIQUE. — On peut adresser à cette méthode les critiques suivantes :

a) *Extraction* : Le procédé d'extraction n'est pas parfait : l'addition d'acide devrait être faite dès le début de l'opération et une acidification forte serait nécessaire pour entraîner complètement l'adrénaline. L'ébullition présente l'inconvénient de donner au liquide une teinte jaune plus ou moins foncée, qui gêne beaucoup le dosage ultérieur. Elle cause en outre une certaine altération de l'adrénaline, probablement un début d'oxydation.

b) *Le dosage proprement dit* : La coloration se produit bien dans les conditions d'acidité prescrites par les auteurs. Cependant nous avons vu qu'une acidité plus forte serait nécessaire pour obtenir une extraction complète de l'adrénaline. Mais alors la réaction à l'iode serait négative. G. Toujan a, en effet, constaté que la présence de 0 cm³ 2 de ClH au 1/10 pour 100 cm³ est suffisante pour empêcher l'apparition de la coloration rose.

Cette technique est donc peu recommandable.

Méthode de S. Frankel et R. Allers [17].

On peut la considérer comme une variante de la précédente. La coloration est obtenue par addition à chaud d'iodate de potassium N/100, en présence de quelques gouttes de PO⁴H³ dilué. Les auteurs y avaient vu une réaction nouvelle. Mais c'est en réalité l'iode libéré par l'acide phosphorique qui est le véritable agent colorant. On peut en effet vérifier sa présence par l'empois d'amidon.

CRITIQUE. — Nous voyons peu d'avantage à cette méthode. Elle est sujette aux mêmes critiques que la précédente et elle est en outre d'une technique plus compliquée.

Méthode de G. Weller [30].

C'est une modification de la méthode de J. E. Abelous, A. Soulié et G. Toujan. Les inconvénients que nous avons constatés chez cette dernière, sont ici supprimés. En effet :

1° L'extraction est complète parce qu'elle est faite par l'acide trichloracétique suivant une technique qui assure l'entraînement total de l'adrénaline.

2° La coloration de l'adrénaline par l'iode peut apparaître dans cet extrait avec toute l'intensité nécessaire parce que l'acidité de l'extrait est partiellement neutralisée par l'addition d'acétate de potassium jouant le rôle de tampon.

Nous avons pratiqué cette méthode en employant la technique suivante qui est celle de l'auteur à quelques modifications de détail près :

a) *Extraction* : Broyer très soigneusement les surrénales fraîches de chien avec du sable lavé, et triturer avec 2-3 cm³ d'acide trichloracétique à 10 %, puis ajouter 20 cm³ d'acide. Laisser le mélange pendant 20 minutes en l'agitant de temps en temps et filtrer au Büchner. Le résidu est additionné de 10 à 15 cm³ d'acide à 10 % et est laissé 10 minutes en agitant. Filtrer et répéter encore deux fois l'extraction de la même façon. Il faut obtenir un volume d'extrait d'environ 60 cm³ pour 1 gr. de glande. L'épuisement est ainsi complet. Rincer la fiole avec 1 ou 2 cm³ d'acide à 10 %. L'extrait obtenu est absolument limpide et incolore si les surrénales sont fraîches. Déterminer exactement son volume V.

b) *Dosage proprement dit* : Mesurer à la pipette 10 cm³ d'extrait dans deux bechers. Ajouter dans l'un d'eux 2 cm³ d'une solution d'adrénaline à 0,10 p. 1.000 dans l'acide trichloracétique à 10%, ce qui correspond à 0 mgr. 2 d'adrénaline. Dans l'autre becher ajouter 2 cm³ d'acide trichloracétique à 10 %. Dissoudre ensuite dans chacun d'eux 1 gr. 20 d'acétate de potassium cristallisé. Lorsque la dissolution est complète, verser dans chaque becher 5 cm³ d'iode en-

viron N/100. Laisser 15 minutes en contact. Eliminer l'excès d'iode par quelques gouttes d'hyposulfite de sodium environ N/100. Il apparaît alors une belle coloration violette. Les solutions demeurent toujours parfaitement limpides. Il faut éviter de verser un excès d'hyposulfite qui peut modifier légèrement la teinte ; on y arrive facilement en employant de l'hyposulfite N/50 au lieu d'hyposulfite N/10 pour achever l'opération. Amener les deux solutions au même volume, soit en versant quelques gouttes d'eau dans le becher où l'on aura mis le moins d'hyposulfite, soit en complétant à 20 cm³ avec de l'eau distillée.

Comparer les deux solutions au colorimètre Duboscq. L'augmentation de la coloration dans l'une d'elle est due à la présence de l'adrénaline ajoutée. On obtiendra un chiffre n représentant le rapport des deux colorations, et qui devra être inférieur à l'unité.

Calculer la quantité d'adrénaline en milligrammes, contenue dans l'extrait total, en employant cette formule :

$$X = \frac{n \times 0,2}{1 - n} \times \frac{V}{10}.$$

Pour avoir la quantité d'adrénaline contenue dans 1 gr. de glande, diviser le nombre obtenu par le poids de glandes employé pour le dosage.

CRITIQUE. — G. Weller justifie l'emploi de cette technique par les arguments suivants :

a) *Extraction* : Pour être complète, l'extraction doit être faite avec une solution suffisamment acide. L'auteur a choisi l'acide trichloracétique à 10 % qui permet un épuisement total des surrénales. L. C. Baker et G. F. Marrian [6] avaient déjà préconisé l'emploi de cet acide. L. Binet et G. Weller [12] ont effectué des dosages d'adrénaline par l'iode sur deux portions de lots de pulpe surrénale fraîche ; une des portions a été épuisée par l'acide trichloracétique à 10 % et l'autre par l'acide sulfurique selon les indications de O. Bailly [5]. Pour 2 lots de surrénales, les résultats ont été les suivants :

	I	II
Extraction par :		
L'acide trichloracétique.....	1 mgr. 642	1 mgr. 354
L'acide sulfurique.....	1 mgr. 342	0 mgr. 975

Des dosages effectués sur le sang additionné d'une quantité connue d'adrénaline, ont montré que l'adrénaline était totalement entraînée par l'acide trichloracétique à 10 % et partiellement seulement par l'acide trichloracétique à 5 %.

Cet acide a, en outre, l'avantage d'éliminer complètement les matières protéiques qui, même présentes en faible quantité, causent des erreurs par excès dans le dosage de l'adrénaline. Enfin, il est inutile de recourir au chauffage, comme on le fait dans la plupart des autres méthodes, afin de coaguler les albumines, chauffage qui a l'inconvénient d'altérer partiellement l'adrénaline et de donner des extraits colorés en jaune.

b) *Dosage* : Il est impossible de faire apparaître la coloration rose par l'iode dans l'extrait obtenu avec l'acide trichloracétique à 10 %, à cause de l'acidité trop élevée. Elle ne se produit que lorsque le pH atteint 3, mais elle est faible encore. A partir de pH=4, la coloration rouge est très intense et atteint son maximum 3 à 5 minutes après l'addition d'iode. L'acétate de potassium permet de substituer l'acidité acétique à l'acidité trichloracétique, donc d'élever le pH. Avec la proportion employée dans la technique de G. Weller, on obtient un pH supérieur à 4, et la réaction colorée se produit parfaitement bien. D'autres sels d'un acide faible avec une base forte donnent d'ailleurs des résultats équivalents.

Il faut souligner la technique très particulière adoptée ici pour le dosage colorimétrique. Après la production de la coloration par l'iode, la solution extractive n'est pas comparée à une solution pure d'adrénaline, comme on le fait habituellement. Elle est comparée à une solution préparée semblablement à partir de l'extrait et additionnée d'une quantité connue d'adrénaline. De la sorte, on détermine

l'augmentation produite par cette adrénaline surajoutée, et, de celle-ci, on déduit la quantité d'adrénaline contenue dans l'extrait pur.

De cette façon, les colorations sont produites dans des conditions identiques, et par conséquent parfaitement comparables, même dans le cas d'extraits légèrement colorés. Nous avons eu l'occasion de constater que certaines substances (alanine, créatinine, etc...), sans produire par elles-mêmes de réactions colorées avec l'iode, peuvent pourtant modifier l'intensité de la teinte due à l'adrénaline. Si donc l'extrait renferme de telles substances, les dosages seront erronés si l'on emploie la méthode colorimétrique usuelle; ils seront exacts si l'on a recours à la méthode de comparaison de G. Weller.

Réaction au sublimé

L'adrénaline donne avec le bichlorure de mercure une coloration rouge. Cette réaction avait été signalée en premier lieu par Mühlmann. G. Comessati [13] précisa en 1907 la façon de la pratiquer. G. Denigès [14] l'améliora en conseillant de l'effectuer en présence d'acétate de sodium. Enfin O. Bailly [5], en 1924, publia une méthode de dosage de l'adrénaline dans les poudres de surrénales, basée sur cette réaction.

Méthode de O. Bailly.

Nous reproduisons le texte de l'auteur :

A. — Introduire successivement dans une fiole jaugée de 100 cm³ :

Poudre de surrénales	1 gr.
SO ⁴ H ² N	1 cm ³
Eau distillée	5 cm ³

Laisser macérer 1/4 d'heure en ayant soin d'agiter fréquemment, compléter à 100 cm³ avec Q.S. d'eau distillée

et laisser encore 1/4 d'heure en contact, en agitant de temps en temps, filtrer.

B. — D'autre part, introduire dans un tube à essai :

Acétate de sodium	1 gr.
Eau distillée	8 cm ³

Agiter jusqu'à dissolution, puis ajouter :

Filtrat ci-dessus	2 cm ³
-------------------------	-------------------

Mélanger et ajouter :

Solution de HgCl ² à 5 %	III gouttes
---	-------------

Mélanger à nouveau.

Il ne tarde pas à apparaître une belle coloration rouge qui atteint son maximum d'intensité au bout de 3 minutes environ et qui est même suffisamment intense et stable pour se prêter à un dosage colorimétrique par comparaison avec la solution d'adrénaline suivante de titre connu :

Adrénaline pure	0 gr. 01
SO ⁴ H ² N	1 cm ³
Eau distillée Q. S. pour	100 cm ³

Cette méthode donne des résultats très satisfaisants. C'est pourquoi, la Commission chargée de la rédaction du Codex [19] a prescrit de l'employer pour le dosage de l'adrénaline dans les poudres de surrénales.

APPLICATION AUX GLANDES SURRÉNALES FRAÎCHES. — M. Paget et P. Lohéac [25] ont publié une application de la méthode de O. Bailly aux surrénales fraîches. M. Paget a modifié cette technique en 1931 [24].

A. Leulier avec G. Mourriquand, avec P. Gojon, et avec L. Revol [21, 22 et 23] a également utilisé cette méthode pour les capsules fraîches. Il opère ainsi :

A) *Extraction* : Une prise d'essai de 0 gr. 40 à 1 gr. est broyée avec 2-3 fois son poids de sulfate de soude anhydre et mise dans une éprouvette de 20 cm³ avec 2 cm³ de SO⁴H² $\frac{N}{10}$ et 8 cm³ d'eau distillée. On agite. Après 15 minu-

tes on complète à 20 cm³, on agite, un quart d'heure après on filtre.

B) *Dosage proprement dit* : 2 cm³ du filtrat sont mis dans un tube à essai contenant 1 gr. d'acétate de sodium et 8 cm³ d'eau distillée. On agite. On ajoute 5 gouttes de Cl²Hg à 5 %. On mélange, on laisse en contact 25 minutes. Il se produit une teinte rose qui passe au rouge s'il s'agit de médullaire.

Vingt minutes après la mise en train de cette coloration, on prépare un témoin avec 2 cm³ de solution T (adrénaline à 1/10.000 dans SO⁴H² N/100) 8 cm³ d'eau distillée et 5 gouttes de Cl²Hg. Au bout de 3 à 5 minutes, on filtre les liquides, ou bien on centrifuge, et on compare au colorimètre.

CRITIQUE. — a) *Extraction* : Nous croyons que l'épuisement n'est pas complet dans cette technique employée pour les surrénales fraîches. Il est très difficile d'entraîner l'adrénaline totalement. On ne peut y arriver qu'au moyen d'une solution fortement acide et en répétant les épuisements. Si la technique de O. Bailly donne de bons résultats pour les surrénales desséchées, on ne peut *a priori* en déduire qu'il en est de même avec les glandes fraîches.

Léon Binet et G. Weller [12] ont publié à ce sujet les résultats de leurs recherches. Ils les relatent ainsi :

« Des glandes surrénales de chiens ont été finement broyées et aussitôt divisées en deux lots : l'un servit à un dosage immédiat sur le tissu frais, l'autre a été utilisé pour un dosage après un séjour de 24 heures dans le vide phosphorique. Dans les deux cas les extractions ont été faites, d'une part par l'acide trichloracétique selon la technique de l'un de nous, d'autre part au moyen de l'acide sulfurique selon les indications de O. Bailly et, dans chaque liqueur trichloracétique ou sulfurique d'extraction, on a dosé colorimétriquement l'adrénaline, à la fois par le procédé à l'iode et par la technique au bichlorure de mercure (*).

(*) Pour les dosages au sublimé, les extraits préparés à l'acide trichloracétique ont été préalablement neutralisés par l'ammoniaque et addi-

Les résultats, pour deux expériences différentes (I et II), sont donnés dans ce tableau (adrénaline en mgr.) :

Extraction par :	Dosage	Dosage immédiat		Dosage après action du vide	
		I	II	I	II
L'acide trichloracétique {	à l'iode ...	1,642	1,354	1,628	1,342
	au sublimé.	1,535	1,308	1,604	1,358
L'acide sulfurique {	à l'iode ...	1,342	0,975	1,637	1,313
	au sublimé.	1,300	0,994	1,666	1,325. »

Ces résultats obtenus par Léon Binet et G. Weller nous paraissent suffisamment nets pour mettre en doute l'excellence de l'extraction de l'adrénaline par l'acide sulfurique dans les glandes fraîches.

b) *Dosage proprement dit* : 1° La réaction donnée par le sublimé avec l'adrénaline est influencée par la réaction du milieu comme les autres réactions colorées de l'adrénaline : elle n'apparaît qu'entre certaines limites de pH, et ces limites sont assez étroites, de sorte que le pH nécessaire pour la production de la coloration par le sublimé est très proche du pH auquel se produit l'oxydation spontanée de l'adrénaline. Il s'en suit que lorsqu'on opère le dosage, si le pH minimum est légèrement dépassé, il se produit une oxydation spontanée de l'adrénaline qui peut-être entraîne une modification dans la nature ou l'intensité de la réaction avec le sublimé.

A cause de cela, la méthode au sublimé est assez délicate à réaliser, et peut-être sujette à erreur.

2° La coloration de l'adrénaline avec le sublimé atteint son maximum 3 minutes environ après l'addition de sublimé. Il en est de même avec l'extrait de poudre de surrénales. Mais lorsque la réaction est effectuée sur l'extrait sulfurique des surrénales fraîches, la coloration apparaît beaucoup plus lentement puisqu'elle atteindrait

tionnés d'acide sulfurique. Pour les dosages à l'iode, les extraits préparés à l'acide sulfurique ont été additionnés préalablement d'acide trichloracétique.

son maximum d'intensité en 25 minutes. C'est à cause de ce fait que A. Leulier prescrit de ne mettre en train la réaction de la solution témoin que 20 minutes après avoir opéré celle de la solution extractive.

Un tel retard dans la production de la coloration ne peut s'expliquer que par la présence dans l'extrait de substances autres que l'adrénaline qui opposent une gêne à la réaction. Dès lors, comment est-on assuré qu'il en résulte seulement un retard dans l'apparition de la coloration et non pas un affaiblissement de cette réaction ? Il nous semble qu'il reste là un point à éclaircir.

Ces diverses critiques que nous venons d'émettre nous font croire que cette méthode de dosage ne peut, avec sa technique actuelle, être appliquée en toute sécurité aux capsules surrénales fraîches, qu'il serait utile de l'étudier plus à fond pour obtenir les garanties nécessaires à sa bonne marche.

Méthode de J. H. Barker, C. J. Eastlands et N. Evers.

En 1910, A. J. Ewins [15] a fait connaître une nouvelle réaction colorée de l'adrénaline. On l'obtient en faisant agir une solution de persulfate de potassium sur la solution d'adrénaline ; il se produit une coloration rose. La sensibilité de la réaction est, d'après l'auteur, de 1 pour 5.000.000.

A. J. Ewins indiquait que la réaction pouvait être appliquée à des extraits acides de glandes surrénales, mais sans cependant décrire aucune méthode de dosage.

En 1932, J. H. Barker, C. J. Eastlands et N. Evers [7] ont repris la réaction de A. J. Ewins et publié une méthode de dosage de l'adrénaline utilisant cette réaction.

Ces auteurs ont étudié l'influence des chlorures, du calcium, du cuivre, de la température, sur la réaction. Ils ont découvert que le pH a une importance de premier ordre, que la coloration se produit avec une rapidité et une intensité qui dépendent de sa valeur. Ils ont établi des courbes montrant que le pH optimum est 5,5. Mais le pH

s'accroît à mesure que la réaction se produit. Pour l'éviter il suffit d'opérer en présence d'un « tampon ». On le réalise facilement en utilisant comme réactif colorant une solution à 2 pour 1.000 de persulfate de potassium, renfermant également du phosphate monosodique et du phosphate disodique.

Pour le dosage de l'adrénaline dans les glandes surrénales, J. H. Barker et ses collaborateurs recommandent la technique suivante :

Faire l'extraction par l'acide trichloracétique, ajuster le pH de l'extrait à 5,4 (indicateur externe : rouge de méthyle). Ajouter un volume égal de réactif au persulfate, laisser le mélange 30 minutes à 22° et comparer au teintomètre ou au colorimètre à une solution standard d'adrénaline traitée de la même façon.

Nous avons essayé l'emploi de cette méthode pour le dosage de l'adrénaline dans les capsules surrénales de chien. Nous faisons l'extraction par l'acide trichloracétique à 10 %, en suivant la technique indiquée par G. Weller pour le dosage par l'iode.

Pour l'ajustement du pH, J. H. Barker, C. J. Eastlands et N. Evers ne donnent aucune précision sur le réactif à employer. Nous avons choisi du phosphate trisodique en solution concentrée craignant que la soude n'agisse trop brutalement.

Comme solution standard, nous avons employé une solution d'adrénaline à 0,10 p. 1.000 dans l'acide trichloracétique à 10 %, que nous amenions au pH 5,4 dans les mêmes conditions que l'extrait à titrer.

Après avoir ajouté aux deux solutions un volume égal de réactif au persulfate, nous les laissons pendant 20 à 30 minutes à l'étuve à 37°. Nous avons constaté que, comme J. H. Barker et ses collaborateurs l'ont remarqué, à 37° la coloration est légèrement plus forte et beaucoup plus rapidement atteinte qu'à une température plus basse, et qu'elle est stable plus longtemps.

Nous faisons ensuite la comparaison au colorimètre.

Sur un même extrait, nous avons toujours effectué com-

parativement au moins deux dosages, l'un par l'iode, l'autre par le persulfate. Aussi nous avons pu nous rendre compte rapidement de la discordance des résultats. Les chiffres obtenus par la méthode au persulfate étaient tantôt inférieurs, tantôt supérieurs aux chiffres correspondants de la méthode à l'iode ; l'écart était souvent considérable.

Nous avons pensé que cela pouvait être dû à la composition de l'extrait de surrénales dont certaines substances auraient pu modifier la coloration donnée par l'adrénaline. Pour éliminer cette cause d'erreur, nous avons appliqué à cette méthode la technique colorimétrique de G. Weller consistant à mesurer deux volumes égaux d'extrait, à ajouter à l'un d'eux une quantité connue de solution standard, à l'autre un égal volume d'acide trichloracétique à 10 %. Après avoir amené au pH 5,4 les deux solutions ainsi préparées, nous ajoutons le réactif colorant. Du rapport des intensités des colorations, nous déduisons la richesse de l'extrait en adrénaline.

Voici les résultats obtenus par ces différents procédés :

	Iode	Persulfate de K	
		Technique de Barker	Technique de Weller
Chien I	1,716	1,111	2,071
Chien II	1,769	1,863	0,448
Chien III	2,053	{ 1,857	{ 2,067
		{ 1,852	{ 1,802
Chien IV	1,908	—	{ 3,179
			{ 3,104

On voit nettement par ces chiffres que les résultats de la technique de G. Weller ne sont pas plus satisfaisants que ceux de la technique de J. H. Barker.

Nous n'avons pas toutefois voulu nous en tenir à ces seuls essais, car si l'on juge une méthode comparativement à une autre, l'erreur peut être parfois du côté où on ne l'a pas prévue. C'est pourquoi nous avons pratiqué des dosages sur des tissus autres que des glandes surrénales, aux-

quels nous ajoutions, après broyage, des quantités connues d'adrénaline pure (3 mgr.). Nous avons ainsi opéré avec du muscle de lapin et nous avons fait un extrait trichloracétique du volume de 125 cm³. Nous avons fait une expérience semblable avec du pancréas de chien. Nous avons obtenu les résultats suivants (mgr. d'adrénaline) :

	Iode	Persulfate de K	
		Technique de Barker	Technique de Weller
Muscle de lapin	{ 2,876 3,006	{ 2,56 2,56	{ 3,25 3,39
Pancréas de chien.....	3,13	2,817	2,12

Dans les dosages à l'iode, les erreurs vont de 0 à 4,3 %, tandis que, dans les dosages par le persulfate, elles varient de 6,1 à 29,3 %, ce qui montre bien que cette dernière méthode donne des résultats peu satisfaisants.

Dans tous les dosages précédents, les teintes obtenues avec le persulfate étaient toujours très faibles, comparativement beaucoup plus faibles que les colorations produites dans les dosages correspondants par l'iode.

J. H. Barker dit, en effet, que le dosage n'est pas possible lorsque la concentration de l'adrénaline est inférieure à 1/100.000. Or, dans les conditions où nous opérons pour les surrénales de chien, bien souvent la concentration finale n'atteignait pas ce chiffre. Nous ne croyons pas que l'on puisse extraire l'adrénaline avec un volume plus faible d'acide trichloracétique, car l'extraction risquerait d'être incomplète. On sait en outre qu'il faut ajouter à l'extrait un volume égal de réactif, ce qui a pour résultat de doubler la dilution de la solution à titrer.

Nous avons trouvé un autre défaut à la méthode, c'est que les colorations obtenues dans les solutions à comparer se prêtent généralement mal à l'examen au colorimètre, en ce sens qu'il est impossible d'obtenir l'identité des teintes, l'une apparaissant toujours d'un rose un peu grisâtre et l'autre d'un beau rose. Ceci se produit aussi bien par la technique de G. Weller que par celle de J. H. Bar-

ker, et la teinte grisâtre apparaît tantôt dans la solution standard et tantôt dans la solution extractive. Comme le réctif, la température, la durée du contact sont toujours les mêmes dans les deux solutions, nous avons pensé qu'il fallait attribuer cette différence des teintes à des différences dans le pH. Nous nous servions cependant toujours du même indicateur, le rouge de méthyle, et nous arrêtions l'addition de solution alcaline au même virage. Mais un écart minime des pH est sans doute suffisant pour causer une différence de coloration.

Quelle que soit la cause de ce fait, il en résulte que la comparaison est extrêmement difficile et doit être faite approximativement. Il y a donc là une cause d'erreur qui nous paraît peu facile à éviter et rend le dosage délicat à réaliser.

En raison des mauvais résultats obtenus, nous avons préféré renoncer complètement à utiliser cette méthode pour les dosages d'adrénaline dans les glandes surrénales de chien. Néanmoins, il nous a paru intéressant de rechercher si elle était plus satisfaisante lorsque l'on a affaire à des tissus plus riches en adrénaline. Nous avons pour cela effectué des essais assez semblables aux précédents, mais pour une même quantité d'adrénaline (3 mgr.) nous avons pris un poids plus faible de tissu et nous avons fait l'extraction avec 50 cm³ d'acide trichloracétique à 10 %, au lieu de 125 cm³. Les dosages ont donné les résultats suivants :

	Iode	Persulfate de K	
		Technique de Barker	Technique de Weller
Pancréas de chien	—	3,04	1,87
Muscle de chien	3,09	2,82	3,14

Ici encore l'identité des teintes n'a pu être réalisée ; cependant les résultats de la méthode au persulfate de potassium sont beaucoup plus satisfaisants (à l'exception du chiffre 1,87).

Nous en déduisons que la méthode de dosage de l'adré-

naline publiée par J. H. Barker, C. J. Eastlands et N. Evers donne de bons résultats avec les tissus suffisamment riches en adrénaline (surrénales de bœuf, de cheval), mais qu'elle se révèle insuffisante pour les glandes surrénales de chien.

CONCLUSION.

Parmi les méthodes de dosage de l'adrénaline dans les glandes surrénales publiées jusqu'à ce jour, beaucoup sont imparfaites, soit parce que l'extraction de l'adrénaline est incomplète, soit parce que la réaction colorée utilisée pour le dosage colorimétrique n'est pas suffisamment spécifique.

Nous avons étudié plus particulièrement les méthodes basées sur les réactions au bichlorure de mercure, au persulfate de potassium et à l'iode :

Les méthodes au sublimé ne semblent pas réaliser une extraction totale de l'adrénaline contenue dans les glandes surrénales fraîches.

La méthode au persulfate de K utilise une réaction colorée qui n'est pas assez intense pour être appliquée aux glandes surrénales de chien.

La méthode à l'iode nous a paru excellente lorsqu'elle est pratiquée suivant la technique de G. Weller : l'extraction est complète, la réaction est assez sensible et spécifique pour donner de très bons résultats avec les capsules surrénales fraîches du chien.

C'est la méthode que nous avons adoptée pour ce travail.

CHAPITRE II

Spécificité des réactions colorées de l'adrénaline.

Nous avons jugé utile de rechercher s'il n'existait pas des substances capables de gêner ou de modifier les réactions colorées de l'adrénaline. Dans cette étude, nous avons surtout considéré les substances pouvant exister dans les tissus animaux et susceptibles d'accompagner l'adrénaline dans les extraits acides. Nous avons recherché comment se comportaient avec elles les réactifs colorants de l'adrénaline. Toutefois nous avons borné ces travaux aux réactions servant de base aux méthodes de dosage suivantes :

a) LA MÉTHODE DE O. BAILLY (réaction au sublimé). — Nous nous sommes placée dans les conditions du dosage de l'adrénaline, c'est-à-dire en milieu faiblement sulfurique et en présence d'acétate de sodium. Avec un grand nombre des substances étudiées, il se produit un précipité blanc. Nous n'y avons pas attaché d'importance, car un tel précipité peut se produire même avec l'adrénaline, et, dans le dosage, il se trouve normalement éliminé par filtration avant l'examen au colorimètre. Nous avons seulement noté les réactions colorées ; on verra qu'un très petit nombre des substances examinées en ont produit.

b) LA MÉTHODE DE J. H. BARKER, C. J. EASTLANDS ET N. EVERS (réaction au persulfate de potassium). — Nous avons utilisé le réactif préparé suivant la formule des auteurs et étudié son action à chaud sur les substances considérées. Il ne s'est jamais produit de précipité, mais parfois une coloration.

c) LA MÉTHODE A L'IODE. — Nous avons étudié la spécificité de cette réaction, telle qu'elle est pratiquée dans la méthode de dosage de G. Toujan, c'est-à-dire, action de la solution N/10 d'iode sur la solution aqueuse, neutre ou très faiblement acide, du produit considéré ; et aussi suivant les conditions de la méthode de G. Weller : action de l'iode N/100 sur une solution de la substance à essayer dans l'acide trichloracétique à 10 % en présence d'acétate de potassium. Nous ne notons ni les formations de précipité, d'ailleurs exceptionnelles, ni les absorptions d'iode.

Le tableau ci-dessous indique les colorations que nous avons obtenues avec les trois réactifs envisagés :

	Sublimé	Persulfate de K	Iode	
			Milieu trichloracé- tique et acétate de K	Milieu neutre
Glycocolle	0	0	0	0
Alanine	0	0	0	0
Phénylalanine	0	0	0	0
L. Dioxypénylala- ni e	rouge	rose	rouge	rouge
Leucine	0	0	0	0
L. Cystine	0	0	0	0
Cystéine (ch te)	0	0	0	0
Tyrosine	0	0	0	0
L. Tryptophane	0	jaune	violet	violet
Indol	0	jaune	brun	brun
Histamine	0	0	0	0
Asparagine	0	0	0	0
Guanidine (carbonate)	0	0	0	0
Arginine (nitrate)	0	0	0	0
Urée	0	0	0	0
Acide urique	0	0	0	0
Thiosinamine	0	0	0	0
Pyrocatechine	jaunâtre	jaune	brun	brun
Hydroquinone	brun	brun	brun	brun
Acide salicylique	0	jaune	0	rose
Ephédrine	0	0	0	0
Hordénine	0	0	0	0
Vanilline	0	0	0	0
Créatinine	0	0	0	0
Créatine	0	0	0	0
Vitérol	brun	rouge	brun ou violet	brun o u violet
Acide sulfanilique	0	rose	0	0
Orcine	0	0	0	rose
Acide ascorbique	0	0	0	0

On voit d'après ce tableau que sur les 29 substances étudiées, 20 ne présentent aucune coloration avec les trois réactifs employés, 4 substances présentent une réaction colorée avec chacun d'eux ; ce sont : la l. dioxyphénylalanine, la pyrocatechine, l'hydroquinone et le vitérol (sulfate N méthyl paramidophénol génol). Avec le l. tryptophane, l'indol et l'acide salicylique, le sublimé seul ne donne pas de coloration. L'acide sulfanilique présente une teinte rose avec le persulfate de potassium. Enfin l'orcine donne avec l'iode une coloration et un précipité roses, mais seulement en présence d'acétate de potassium ; l'acide salicylique donne une coloration rose dans ces mêmes conditions.

A cause de ces réactions, ces diverses substances peuvent causer par leur présence des perturbations dans le dosage de l'adrénaline. Nous avons en particulier déterminé l'influence du tryptophane et de l'indol sur le dosage de l'adrénaline par l'iode.

Influence du tryptophane

Le tryptophane donne avec l'iode une coloration violette. G. Toujan [28] connaissait cette réaction, mais il crut trouver qu'il n'en résultait pas d'inconvénient pour le dosage de l'adrénaline. Il avait en effet dosé l'adrénaline dans deux lots semblables de pulpe surrénale, l'un des deux ayant été additionné de tryptophane. Avant d'éliminer l'excès d'iode, G. Toujan filtra, parce qu'il s'était produit un précipité, abondant surtout en la présence de tryptophane. Après élimination de l'iode en excès, les deux solutions lui apparurent semblables au colorimètre. G. Toujan pensa donc que le tryptophane était précipité par l'iode et qu'il était séparé par filtration. Son influence aurait été ainsi supprimée.

Nous avons refait l'expérience de G. Toujan et constaté comme lui un précipité en présence de tryptophane :

nous l'avons éliminé par filtration, mais les deux solutions sont apparues de teintes différentes : la solution additionnée de tryptophane était rouge brun, tandis que l'autre était violette. Il était impossible de les comparer correctement dans ces conditions.

Nous avons alors recherché si le tryptophane a aussi une action néfaste lorsque le dosage est pratiqué par la méthode de G. Weller. Nous avons opéré sur des solutions pures d'adrénaline. Nous avons filtré comme le faisait G. Toujan ; les teintes obtenues furent comparables, ce qui s'explique facilement, puisqu'il y avait la même quantité de tryptophane dans les deux solutions à comparer ; mais il y eut une erreur par excès très élevée dans les résultats du dosage :

Adrénaline mise en réaction	1 mgr.
l. Tryptophane	2 mgr. 5
Acétate de K.....	1 gr. 20
Résultat	3 mgr. 30

Nous avons remarqué que la réaction du tryptophane avec l'iode est plus faible en présence de citrate de sodium qu'en présence d'acétate de potassium. Comme ces deux sels donnent des résultats équivalents dans le dosage de l'adrénaline, il sera donc préférable d'employer le citrate de sodium si la solution à titrer renferme du tryptophane. Il est alors nécessaire de mettre une quantité de citrate de sodium double de la quantité habituelle d'acétate de K. Dans ces conditions, la sensibilité de la réaction du tryptophane est 10 fois plus faible que celle de l'adrénaline. Il est donc possible d'effectuer le dosage de l'adrénaline en présence de tryptophane si la quantité de cette substance est trop faible pour modifier les résultats du dosage de l'adrénaline.

On peut en juger d'après les résultats du dosage suivant :

Adrénaline mise en réaction	1 mgr.
l. Tryptophane	1 mgr.
Citrate de sodium	2 gr. 40
Résultat	1 mgr. 01

Influence de l'indol

L'indol, au contraire, cause des erreurs par défaut : deux dosages d'adrénaline effectués en présence d'indol par la méthode de G. Weller, ont donné, l'un une erreur de 9 % par défaut, l'autre une erreur de 27 %.

Il faudra toujours considérer comme suspects des dosages d'adrénaline par l'iode effectués en présence de l'une ou l'autre des substances donnant des réactions colorées avec le réactif colorant. Nous pensons qu'aucune d'elles n'existe dans les surrénales à l'état frais. Certaines ne sont jamais rencontrées dans les tissus animaux : tels sont la pyrocatechine, l'hydroquinone, le vitérol, l'acide salicylique, l'orcine. Nous ne croyons pas que le tryptophane et l'indol existent dans les tissus à l'état frais. Les extraits de ces tissus ne donnent jamais de coloration avec l'iode, exception faite des surrénales. Mais nous avons reconnu la présence du tryptophane dans les tissus autolysés et l'action néfaste qui en résulte pour le dosage de l'adrénaline. Quant à l'indol, il peut apparaître dans les tissus en état de putréfaction avancée.

Les autres substances étudiées ne présentent, on l'a vu, aucune réaction colorée avec les trois réactifs considérés. On pourrait donc *a priori* supposer que la présence de l'une ou de l'autre d'entre elles dans les solutions d'adrénaline à titrer est négligeable. Il n'en est cependant pas toujours ainsi et nous avons eu l'occasion de constater que plusieurs de ces substances pouvaient modifier les résultats du dosage de l'adrénaline par l'iode, soit dans un sens, soit dans l'autre, intervenant sans doute pour renforcer ou pour diminuer l'action oxydante de l'iode.

Influence de l'alanine et de la phénylalanine

Ainsi que nous l'avons constaté, ces acides aminés ne présentent pas de coloration avec l'iode. Cependant, d'a-

près G. Bayer [10], la coloration de l'adrénaline par l'iode serait renforcée en leur présence. Comme ils peuvent apparaître au cours de l'autolyse des capsules surrénales, G. Bayer fait remarquer que cette constatation enlèverait toute valeur aux essais effectués par J. E. Abelous et ses collaborateurs, en vue de démontrer une libération complémentaire d'adrénaline par séjour à l'étuve des surrénales pulpées et émulsionnées dans l'eau physiologique.

Aussi, il nous a paru intéressant de vérifier cette assertion. Nous avons fait dans ce but des dosages d'adrénaline en présence d'alanine. Nous opérons sur une solution titrée d'adrénaline (solution au 1/10.000). La différence entre la quantité d'adrénaline mise en expérience et la quantité retrouvée par le dosage montre l'influence de l'alanine. Nous avons opéré suivant quatre techniques différentes, l'iode étant toujours le réactif colorant. Les résultats sont indiqués dans le tableau ci-dessous :

	I. Comparaison avec une solution étalon d'adrénaline (Alanine d'un seul côté)		II. Comparaison avec une quantité surajoutée d'adrénaline (Alanine des deux côtés)	
	Solution neutre	Solution trichloracé- tique	Solution neutre	Solution trichloracé- tique
Adrénaline	0 mgr. 5	0 mgr. 5	0 mgr. 5	0 mgr. 5
Alanine racémique . . .	0 gr. 01	0 gr. 01	0 gr. 01	0 gr. 01
Acétate de K	—	0 gr. 50	—	0 gr. 60
Résultats des dosages.	0 mgr. 62	0 mgr. 501	0 mgr. 488	0 mgr. 491

I. — On a employé la méthode de comparaison colorimétrique classique, c'est-à-dire que la solution d'adrénaline additionnée d'alanine et représentant la solution à titrer était comparée à une solution titrée d'adrénaline pure. Pour le dosage indiqué dans la première colonne, on a utilisé une solution aqueuse d'adrénaline (sulfate ou chlorhydrate) ; dans la deuxième colonne une solution d'adrénaline dans l'acide trichloracétique à 10 %. On voit que, dans le premier cas, il y a une erreur par excès (24 %).

L'alanine a donc une influence néfaste sur le dosage de l'adrénaline réalisé dans ces conditions qui sont celles de la méthode de J. E. Abelous et G. Toujan. Une telle constatation est conforme à l'affirmation de G. Bayer et justifie la critique des travaux de J. E. Abelous et G. Toujan, si l'alanine existe réellement dans le produit de l'autolyse des surrénales.

Dans la deuxième colonne, l'erreur est presque nulle : l'alanine n'a donc aucune action sur la coloration de l'adrénaline par l'iode en présence d'acide trichloracétique et d'acétate de K.

II. — Les dosages des 2 colonnes de droite sont effectués en utilisant la technique colorimétrique de G. Weller, c'est-à-dire que la solution à titrer est divisée en deux portions égales (0 mgr. 5 d'adrénaline et 0 gr. 01 d'alanine dans chacune d'elles) et une quantité connue d'adrénaline (0 mgr. 01) est ajoutée à l'une d'elles.

Les résultats du dosage de la troisième colonne indiquent nettement les avantages d'une telle technique colorimétrique. On a vu en effet (colonne 1) que l'alanine avait augmenté la coloration de 24 %. Ici, comme il y a de l'alanine des deux côtés, le dosage reste juste malgré cette influence. Ce corps intervient également sur les deux solutions à titrer et son action ne présente plus d'inconvénient.

Le quatrième dosage réunit les avantages des deux précédents : il correspond à la technique de dosage de l'adrénaline de G. Weller. Le résultat est exact, malgré la présence de l'alanine.

Influence de la phénylalanine

Elle agirait d'après G. Bayer comme l'alanine. Elle ne présente aucune coloration lorsqu'elle est additionnée d'iode. Nous avons voulu juger de son influence sur le dosage de l'adrénaline et pour cela nous avons fait des essais analogues à ceux que nous relatons pour l'alanine : nous avons constaté que, tant en milieu aqueux qu'en milieu

trichloracétique, la phénylalanine ne modifie aucunement la coloration de l'adrénaline par l'iode, ni, par conséquent, son dosage.

Influence de la créatine, de la créatinine et de l'arginine

Ces substances auraient une action comparable à celle de l'alanine ; leur présence augmenterait fortement la coloration de l'adrénaline par l'iode. Ces faits ont été signalés par P. Gley [18] qui attribue à leur présence les résultats élevés obtenus par J. E. Abelous et G. Toujan dans les dosages d'adrénaline en présence de macérations de pancréas.

Nous avons fait avec ces trois substances des essais comparables à ceux que nous avons rapportés pour l'alanine. Nous les résumons dans le tableau ci-dessous :

	I. Comparaison avec une solution étalon d'adrénaline (produit étudié d'un seul côté)		II. Comparaison avec une quantité surajoutée d'adrénaline (produit étudié des deux côtés)	
	Solution neutre	Solution trichloracé- tique	Solution neutre	Solution trichloracé- tique
Adrénaline	1 mgr.	1 mgr.	1 mgr.	1 mgr.
Créatine	0 gr. 01	0 gr. 01	0 gr. 01	0 gr. 01
Acétate de K	—	1 gr.	—	1 gr. 20
Résultats des dosages	1 mgr. 03	0 mgr. 993	1 mgr.	1 mgr.
Adrénaline	1 mgr.	1 mgr.	1 mgr.	1 mgr.
Créatinine	0 gr. 01	0 gr. 01	0 gr. 01	0 gr. 01
Acétate de K	—	1 gr.	—	1 gr. 20
Résultats des dosages	29 mgr. 4	0 mgr. 995	0 mgr. 99	1 mgr.
Adrénaline	1 mgr.	1 mgr.	1 mgr.	1 mgr.
Arginine	0 gr. 01	0 gr. 01	0 gr. 01	0 gr. 01
Acétate de K	—	1 gr.	—	1 gr. 20
Résultats des dosages	8 mgr. 4	1 mgr.	1 mgr.	0 mgr. 99

On voit que la créatine n'a pas l'action que lui attribue P. Gley. Les résultats indiqués dans ce tableau sont assez

analogues à ceux qui ont été obtenus avec l'alanine : la créatinine et l'arginine ont, elles aussi, la propriété de renforcer la coloration produite par l'iode avec l'adrénaline. Mais l'augmentation produite est beaucoup plus élevée qu'avec l'alanine. Elle est de même ordre que celle qui a été enregistrée par P. Gley.

Cette action ne se manifeste que lorsque le dosage est effectué suivant la technique de J. E. Abelous et G. Toujan, c'est-à-dire en milieu simplement aqueux et en prenant, comme étalon colorimétrique, une solution pure d'adrénaline (colonne 1). En présence d'acide trichloracétique (colonnes 2 et 4), cette action est complètement annihilée. De même que nous l'avons déjà remarqué pour l'alanine, la supériorité de la technique colorimétrique de G. Weller apparaît très nettement ici encore (colonne 3), puisque la créatinine et l'arginine ne modifient aucunement les résultats du dosage de l'adrénaline, malgré leur action renforçante. Elles peuvent au contraire causer des erreurs considérables si l'on emploie la technique de J. E. Abelous et G. Toujan.

Influence de l'acide sulfanilique

Cette substance présente une coloration rose avec le persulfate de potassium. Avec le sublimé et avec l'iode il n'apparaît aucune coloration. Toutefois G. Bayer [10] a constaté son action sur diverses réactions colorées de l'adrénaline. La réaction à l'iode serait d'après lui fortement gênée par la présence de l'acide sulfanilique.

Le tableau ci-dessous montre que l'acide sulfanilique peut en effet modifier les résultats des dosages par l'iode :

	I. Comparaison avec une solution étalon d'adrénaline (Acide sulfanilique d'un seul côté)		II. Comparaison avec une quantité surajoutée d'adrénaline (Acide sulfanilique des deux côtés)	
	Solution neutre	Solution trichloracé- tique	Solution neutre	Solution trichloracé- tique
Adrénaline	0 mgr. 5	0 mgr. 5	0 mgr. 5	0 mgr. 5
Acide sulfanilique ...	2 mgr.	2 mgr.	2 mgr.	2 mgr.
Acétate de K	—	0 gr. 50	—	0 gr. 60
Résultats :				
1 ^{er} dosage			0,656	0,5
2 ^e dosage	?	?	0,323	0,492
3 ^e dosage			0,733	0,529

Pour les dosages rapportés dans les deux premières colonnes, il nous a été impossible d'effectuer la comparaison au colorimètre. La présence de l'acide sulfanilique entraîne une modification de la coloration qui, au lieu d'être rouge, est orangée, de sorte qu'on ne peut comparer à la solution étalon. Cette modification se produit aussi bien dans l'acide trichloracétique que dans l'eau.

Lorsqu'on opère par la technique colorimétrique de G. Weller (colonnes 3 et 4), c'est-à-dire en partageant la solution à titrer en deux portions et en ajoutant une quantité connue d'adrénaline à l'une d'elles, cet empêchement est supprimé, parce que l'action de l'acide sulfanilique est la même des deux côtés ; les teintes sont donc différentes de celle qui se produit avec l'adrénaline pure, mais parfaitement comparables entre elles. Toutefois, sans que nous nous expliquions ce fait, des dosages répétés en milieu neutre (colonne 3) ont toujours présenté des erreurs élevées, soit par excès, soit par défaut. Par contre, lorsqu'on opère en milieu trichloracétique (colonne 4) suivant la technique de G. Weller, les dosages sont exacts, les écarts obtenus étant de l'ordre des erreurs expérimentales.

Il faut donc conclure de ces essais que lorsqu'on devra faire un dosage d'adrénaline par l'iode, en présence d'a-

cide sulfanilique, c'est la méthode de G. Weller qui devra être obligatoirement choisie.

CONCLUSION

Pour juger de la spécificité des réactions colorées de l'adrénaline, nous croyons pouvoir faire abstraction de l'action des substances que l'on ne peut rencontrer dans les tissus, telles que la pyrocatechine, l'hydroquinone, l'acide salicylique, le vitérol, l'orcine.

La réaction au sublimé ne se montre alors positive, en dehors de l'adrénaline, que pour la dioxyphénylalanine.

La réaction au persulfate de potassium est sans doute modifiée par la présence de dioxyphénylalanine, de tryptophane, d'indol ou d'acide sulfanilique, puisque ces corps donnent une coloration avec le réactif.

Enfin, la réaction à l'iode, si l'on emploie la méthode de G. Toujan, peut être modifiée par la présence d'alanine, de créatinine, d'arginine, d'acide sulfanilique, de dioxyphénylalanine, de tryptophane ou d'indol. Si l'on opère par la méthode de G. Weller, seuls la dioxyphénylalanine, le tryptophane et l'indol peuvent avoir une action néfaste sur le dosage de l'adrénaline.

Remarque I. — Nous rappelons que A. J. Ewins [15] avait trouvé que certaines substances présentent des réactions positives avec l'iode, avec le persulfate de potassium, avec le sublimé et avec l'acide iodique. Ce sont les suivantes :

Méthylamino éthanol catéchol,
Amino éthanol catéchol (Artérénol),
Dihydroxyphényléthylamine,
Dihydroxyphényléthylméthylamine (Epinine),
Dihydroxyphényléthyléthylamine,
Dihydroxyphényléthylpropylamine,
Aminoacéto pyrogallol.

Nous n'avons pas vérifié ces faits.

Remarque II. --- Dans cette étude sur la spécificité, c'est pour la réaction à l'iode que nous avons fait les recherches les plus approfondies. La raison en est simplement que c'était la méthode de G. Weller que nous pensions adopter : il était donc bien nécessaire de déterminer sa valeur réelle.

Nous avons déjà dit précédemment que les méthodes au sublimé et au persulfate de potassium ne nous paraissaient pas présenter de garanties suffisantes pour le dosage de l'adrénaline dans les capsules surrénales fraîches de chien. Nous croyons que des recherches sur l'influence des substances étrangères sur les réactions au sublimé et au persulfate de potassium, effectuées de façon analogue à celles que nous avons réalisées pour la réaction à l'iode, pourraient donner des résultats intéressants. En particulier, nous ne serions pas surprise que l'on puisse découvrir ainsi les raisons pour lesquelles la coloration par le sublimé se produit plus lentement dans les extraits surrénaux que dans les solutions pures d'adrénaline.

CHAPITRE III

Etude comparative de la méthode chimique et de la méthode physiologique de dosage de l'adrénaline.

L'étude des diverses méthodes de dosage de l'adrénaline nous a montré que la méthode de G. Weller était celle qui paraissait préférable pour les glandes surrénales du chien. La réaction à l'iode est sensible, stable, d'une spécificité suffisante pour les surrénales ; la technique proposée par G. Weller réalise les conditions les meilleures pour l'effectuer. L'auteur a fait des vérifications très précises de l'exactitude de sa méthode et a obtenu des résultats pleinement satisfaisants. Nous mêmes, nous n'avons pas répété ces mêmes essais, mais nous avons eu souvent l'occasion de constater que les dosages répétés sur une même glande surrénale donnaient toujours des résultats concordants, alors que souvent il n'en est pas de même avec les autres méthodes.

Cependant, si l'on compare à ceux qui ont été publiés par d'autres auteurs, les chiffres que nous avons obtenus pour les glandes surrénales du chien, ils apparaissent souvent différents. M. Paget [24], par exemple, a obtenu par la méthode au sublimé des taux très inférieurs aux nôtres. Il a effectué le dosage de l'adrénaline chez 25 chiens et a trouvé comme chiffres extrêmes 0 mgr. 10 et 1 mgr. 03 par gramme ; sur ces 25 résultats, 18 sont inférieurs à 0 mgr. 60.

F. Batelli [9] avait auparavant publié des chiffres correspondant à un taux de 0 mgr. 69 à 1 mgr. 37 par gramme.

O. Folia, W. B. Cannon et W. Denis [16] ont trouvé un taux beaucoup plus élevé : 2 mgr. 04 et 2 mgr. 33 par gramme.

Nous-même avons obtenu des chiffres allant de 1 mgr. 16 à 1 mgr. 79. Ils présentent de grands écarts avec ceux que nous venons de rapporter.

A cause de ces divergences, une vérification de notre procédé de dosage par une méthode physiologique nous a paru d'un intérêt certain.

De nombreux procédés physiologiques de dosage de l'adrénaline s'offraient à nous : méthode de la mydriase provoquée, action sur la pression artérielle, méthode de la contraction artérielle de Meyer, perfusion de l'oreille de lapin, méthode de perfusion de la grenouille de Laven-Trendelenburg, etc...

Parmi ces procédés, celui qui nous a paru dès l'abord le plus séduisant, a été la méthode de perfusion de l'oreille de lapin de Krawkow [20]. C'est une méthode d'une grande sensibilité, puisqu'elle permettrait de reconnaître l'adrénaline à une dilution de un milliard.

Pour pratiquer cette méthode, il faut opérer sur une oreille de lapin récemment prélevée. Par l'intermédiaire d'une fine canule, on fait pénétrer dans l'artère un liquide de perfusion isotonique. Ce liquide sort de l'oreille par les veines, au niveau de la section, et est concentré sur un triangle de papier filtre. La pression doit être réglée de telle sorte que le liquide s'écoule goutte à goutte par la pointe de ce papier. Pour une pression constante du liquide, le débit de l'écoulement reste fixe. Si l'on introduit dans le liquide de perfusion, au niveau de la canule, une petite quantité de solution d'adrénaline, on voit presque instantanément le débit de l'écoulement s'abaisser très fortement en raison des propriétés vaso-constrictives de l'adrénaline. Si l'on poursuit la perfusion par le liquide isotonique, le débit se relève peu à peu jusqu'à sa valeur initiale.

Ce procédé est souvent utilisé pour doser l'adrénaline dans le sang. On opère par comparaison avec du sang nor-

mal. Le liquide de perfusion que l'on emploie est généralement la solution de Ringer.

Les premiers essais que nous avons faits par cette méthode furent des plus décevants, puisque l'introduction d'adrénaline dans le système ne réduisait aucunement le nombre de gouttes qui s'écoulaient, et ceci quelle que soit la quantité d'adrénaline introduite dans le système. Nous nous aperçûmes rapidement de la cause d'un tel échec : il était dû simplement à l'action inhibitrice du liquide de Ringer qui, en raison de sa réaction alcaline, oxyde instantanément l'adrénaline. Si un phénomène semblable ne se produit pas lorsque l'on opère sur le sang, nous croyons pouvoir l'attribuer à la présence de substances oxydo-réductrices qui accompagnent l'adrénaline et s'opposent à son oxydation.

Nous avons donc remplacé le liquide de Ringer par l'eau salée à 9‰ et les résultats se montrèrent aussitôt fortement positifs. C'est ainsi que dans le premier de ces essais, le nombre de gouttes qui était d'abord de 50 à la minute tomba à 8, deux minutes après l'introduction de 1 cm³ d'adrénaline au 1/10.000.000, et, 16 minutes plus tard, le débit initial était de nouveau atteint.

A la suite d'un résultat si satisfaisant, nous avons poursuivi les essais de la même façon ; malheureusement nous ne tardions pas à constater que, si les résultats étaient toujours nets, ils étaient irréguliers, la chute de débit étant variable pour une même quantité d'adrénaline et une même oreille. Ainsi, une deuxième injection de 1cm³ d'adrénaline au 1/10.000.000, pratiquée une heure plus tard dans la même oreille, n'abaisse le nombre de gouttes que de 50 à 36, et ceci en 6 minutes.

Une autre oreille, traitée de façon identique, nous a donné des abaissements de 40 à 28, puis de 48 à 12.

En raison de l'inconstance de tels résultats nous avons préféré ne pas persévérer plus longtemps dans l'emploi de cette méthode. Sans doute, nous pensons qu'elle peut donner de très bons résultats qualitatifs et même approximativement quantitatifs. D'ailleurs de nombreux auteurs

sont d'accord pour affirmer l'excellence de la méthode pour le dosage de l'adrénaline dans le sang. Nous n'avons pas fait d'essai de cette sorte ; mais, dans les conditions où nous opérions, nous avons jugé que les écarts entre des résultats qui auraient dû être semblables étaient trop grands pour qu'il soit possible de vérifier de façon satisfaisante par cette méthode les chiffres donnés par un dosage chimique.

Nous avons alors eu recours à la méthode de la mesure de la pression artérielle chez le chien, méthode classique avec laquelle aucune surprise n'était à redouter.

Cushny fut parmi les premiers à étudier cette méthode. Après lui, M. Tiffeneau et ses collaborateurs l'ont perfectionnée et ont indiqué la meilleure façon de la pratiquer.

Elle est actuellement et depuis plusieurs années utilisée dans de nombreux laboratoires et toujours considérée comme une excellente méthode, bien qu'on ne puisse jamais attribuer une valeur absolue aux chiffres obtenus. Car l'animal est un réactif d'un déterminisme trop complexe et trop inconstant pour permettre une mesure rigoureuse.

Nous avons pratiqué cette méthode en suivant la technique suivante : le chien est anesthésié au chloralose, à raison de 0 gr. 10 par kilogr. d'animal. Dès que l'anesthésie est complète, on isole la carotide et on la met en communication avec un manomètre à mercure par l'intermédiaire d'une canule de verre et d'un tube en caoutchouc rempli d'une solution anti-coagulante. Le manomètre est muni d'un stylet inscripteur et enregistre les oscillations de la pression artérielle sur un papier enfumé et placé sur un cylindre enregistreur.

On sectionne les deux nerfs pneumogastriques et on enregistre avant toute injection les oscillations normales de la pression.

L'animal est alors prêt pour le dosage proprement dit. On le pratique en injectant successivement, dans la veine saphène, la solution à titrer et une solution d'adrénaline de titre connu.

Dans nos expériences, ce titre variait de 1/20.000 à

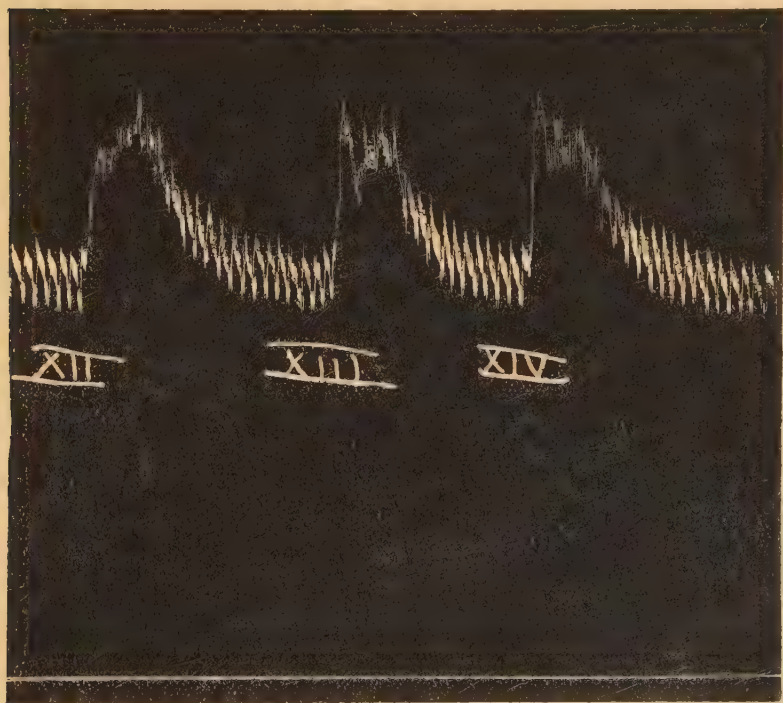
1/80.000 et nous en injections toujours 1 cm³ en prenant bien soin de laver la canule avec du sérum physiologique. Cela correspond à des quantités d'adrénaline de 0 mgr. 01 à 0 mgr. 04. La solution était une dilution dans du sérum physiologique de la solution commerciale à 1 p. 1.000.

La solution à titrer était un extrait des glandes surrénales. Il ne pouvait être question d'injecter un extrait trichloracétique dans les veines du chien. Nous avons donc dû faire l'extraction de l'adrénaline par un autre acide. Nous avons choisi l'acide acétique et opéré de la façon suivante : les surrénales étaient broyées au mortier avec du sable et malaxées avec quelques centimètres cubes d'acide acétique. Après addition de sérum physiologique le mélange était désalbuminé par ébullition et filtration. Nous n'avons pas recherché si l'adrénaline était ainsi totalement extraite. Notre but était seulement de déterminer si, sur un extrait donné, le dosage physiologique et le dosage chimique donnaient des résultats semblables. L'extrait acétique s'y prêtait bien, car, d'une part, après dilution convenable, il pouvait être injecté tel quel au chien et, d'autre part, après lui avoir ajouté de l'acide trichloracétique cristallisé dans la proportion de 0 gr. 10 par centimètre cube, nous pouvions poursuivre le dosage chimique suivant la méthode de G. Weller.

Dans un premier essai, nous avons procédé de la façon suivante : nous avons injecté au chien 1 cm³ d'adrénaline au 1/40.000, puis 1 cm³ d'adrénaline au 1/80.000. Nous avons ensuite cherché à obtenir de nouvelles courbes se rapprochant le plus possible de celles déjà obtenues, en injectant à l'animal l'extrait acétique de surrénales dilué convenablement. De la dilution utilisée nous déduisions la concentration de l'extrait en adrénaline. Le dosage chimique effectué ensuite permettait de comparer les résultats des deux méthodes. Nous nous sommes alors rendu compte des inconvénients de cette technique. Tout d'abord, il fallait opérer par tâtonnement pour injecter l'extrait dont la concentration nous était inconnue, et l'emploi de doses trop élevées causait chez le chien des

réactions beaucoup trop fortes. De plus, lorsque nous avons pu obtenir des courbes d'une hauteur assez voisine de la courbe étalon, la lecture des résultats restait assez délicate. On sait en effet qu'il existe plusieurs méthodes d'interprétation des tracés et les physiologistes ne sont pas toujours d'accord sur leurs valeurs respectives. Elles sont en outre souvent difficiles à réaliser.

Pour ces diverses raisons, nous avons opéré différemment dans les essais suivants : nous avons fait tout d'abord le dosage chimique, puis, en nous basant sur le résultat obtenu, nous avons amené, par dilution, l'extrait à une concentration identique à la solution étalon. Les injections



XII. Injection de 1 cmc. d'extrait surrénal
correspondant à 0 mg. 02 d'adrénaline.

XIII et XIV Injection de 1 cmc. de solution étalon
renfermant 0 mg. 02 d'adrénaline.

successives de ces deux solutions supposées égales donnaient des courbes qui devaient être semblables si les dosages chimiques et biologiques étaient concordants.

Nous avons appliqué cette méthode à des extraits de capsules surrénales de chien, de cheval et de bœuf. Nous reproduisons ci-dessus le tracé obtenu avec les surrénales de chien.

L'injection de solution étalon est de 0 mgr. 04 d'adrénaline. L'extrait surrénal a été amené à une concentration semblable en tenant compte des résultats du dosage chimique, de sorte que la quantité d'adrénaline injectée dans l'un et l'autre cas est la même, si le dosage chimique est exact.

La comparaison des courbes montre que l'action des injections a été très proche avec la solution étalon et avec l'extrait surrénal. On peut cependant remarquer que, pour ce dernier, l'augmentation de pression est très légèrement plus forte. Ceci est bien d'accord avec le fait généralement admis que les extraits surrénaux ont une action hypertensive due principalement à l'adrénaline, mais aussi, pour une faible part, à d'autres substances moins actives.

Avec les extraits surrénaux de cheval et de bœuf, nous avons obtenu des courbes tout à fait analogues.

CONCLUSION

Sur une même solution extractive de glandes surrénales, nous avons pratiqué le dosage chimique par la méthode à l'iode et le dosage physiologique par la mesure de la pression artérielle.

Les résultats des deux méthodes ont été concordants.

CHAPITRE IV

Quelques recherches sur la formation de l'adrénaline.

Il nous a paru intéressant de déterminer si les glandes surrénales avaient le pouvoir d'élaborer de l'adrénaline lorsqu'elles étaient isolées de l'organisme, soit en produisant synthétiquement cette substance, soit en la libérant d'une combinaison existant préalablement dans les tissus (adrénaline dite « virtuelle »).

Nous avons fait dans ce but des recherches sur la glande totale d'une part, sur les zones corticale et médullaire d'autre part.

Glande totale.

Nous avons utilisé des glandes surrénales fraîches de bœuf. Sur une partie de la glande nous faisons le dosage immédiat de l'adrénaline. D'autres portions égales étaient mises à l'étuve à 37° dans du sérum physiologique. Chacun des jours suivants, nous dosions l'adrénaline contenue dans l'un des lots maintenus à l'étuve.

1^{re} expérience : Deux glandes surrénales de bœuf ont été divisées en morceaux très fins avec des ciseaux ; les morceaux ont été soigneusement mélangés. A partir de cette pulpe, il a été préparé et pesé dix lots d'un poids variant de 1 gr. à 1 gr. 60. Deux de ces lots ont été immédiatement employés pour le dosage de l'adrénaline. Les

autres lots ont été mis dans des flacons avec 25 cm³ de sérum physiologique et 2 cm³ de chloroforme. Les flacons ont été mis à l'étuve à 37°. Chacun des jours suivants, deux lots ont été retirés de l'étuve afin d'effectuer le dosage de l'adrénaline.

Les dosages ont été faits chaque jour sur un des lots par la méthode à l'iode de G. Weller (*) et sur l'autre lot par la méthode au sublimé de O. Bailly (**).

Nous avons obtenu les résultats suivants (adrénaline en milligrammes par gramme de glande) :

	Méthode à l'iode	Méthode au sublimé
Dosage immédiat	2,68	2,48
— après 1 jour à 37°	2,14	1,55
— après 2 jours à 37°	2,56	1,49
— après 3 jours à 37°	0,44	1,44
— après 4 jours à 37°	0,77	1,63

Ces chiffres montrent que dans les conditions réalisées ici, il n'y a pas eu augmentation de l'adrénaline, mais une diminution due sans doute à l'oxydation.

Ces résultats cependant ne nous donnaient pas satisfaction à cause de leur irrégularité. La baisse du taux de l'adrénaline est nette si l'on considère l'ensemble des résultats, mais elle ne se produit pas suivant une croissance régulière.

Nous avons attribué ces faits à une préparation défectueuse des lots de glandes. La pulpe n'ayant pas été suffisamment homogénéisée, il en est résulté une répartition inégale des deux zones surrénales, donc de l'adrénaline.

Pour l'éviter, nous avons effectué de nouvelles expériences.

(*) L'extraction était faite de la façon suivante : la liqueur surnageante était décantée et additionnée de 2 gr. 50 d'acide trichloracétique cristallisé. La pulpe était broyée au mortier avec du sable, l'épuisement était commencé avec la liqueur décantée et achevé avec de l'acide trichloracétique à 10 %.

(**) La pulpe était broyée avec du sable et additionnée de 2 cc. de SO⁴H²N/10 ; l'épuisement était poursuivi avec le liquide décanté.

ces assez semblables, mais les glandes ont été broyées très finement avec du sable ajouté en quantité connue ; le tout a été longuement et soigneusement mélangé au mortier. Des portions du mélange homogène ainsi obtenu ont été pesées et traitées comme dans la première expérience. Connaissant le rapport des poids de glandes et de sable mis en œuvre, nous avons pu calculer à quel poids de surrénales correspondait chaque lot.

Les dosages de l'adrénaline ont donné les résultats suivants :

	Méthode à l'iode	Méthode au sublimé
<i>2^e expérience :</i>		
Dosage immédiat	2,11	2,70
— après 1 jour à 37°	1,93	2,94
— après 2 jours à 37°	0	traces
<i>3^e expérience :</i>		
Dosage immédiat	2,79	2,57
— après 1 jour à 37°	2,23	2,64
— après 2 jours à 37°	traces	traces
<i>4^e expérience (*) :</i>		
Dosage immédiat	3,28	2,77
— après 1 jour à 37°	traces	0
— après 2 jours à 37°	0	0

Dans ces trois séries d'expériences, la diminution du taux de l'adrénaline est beaucoup plus rapide que dans la première, puisque, après 2 jours de séjour à l'étuve, les réactions à l'iode sont devenues nulles ou bien trop faibles pour permettre le dosage.

On peut déduire de ces expériences que, lorsque la pulpe surrénale est laissée à l'étuve à 37° dans du sérum physiologique, il se produit une destruction de l'adrénaline qui est plus rapide si la pulpe a été plus finement divisée. Il

(*) Dans cette expérience nous avons ajouté 1 cc. de cyanure de sodium à 5 % dans chacun des flacons mis à l'étuve, pensant que l'oxydation de l'adrénaline serait peut-être diminuée. On voit qu'elle a été au contraire plus rapide.

faut sans doute l'attribuer à une oxydation qui serait facilitée par la division des tissus.

Il nous a semblé alors souhaitable d'éliminer ce facteur, en opérant sur des surrénales entières. Mais la difficulté était d'avoir un point de comparaison pour estimer la modification du taux de l'adrénaline après séjour à l'étuve. Nous avons résolu cette difficulté dans la mesure du possible en opérant sur les deux surrénales d'un même animal, mettant à profit ce fait que le taux d'adrénaline ne présente en général que de faibles écarts dans l'une et l'autre glandes surrénales du même sujet.

Nous avons donc simplement prélevé les deux surrénales d'un chien, nous les avons pesées. Avec l'une d'elles, nous avons effectué immédiatement le dosage de l'adrénaline par la méthode de G. Weller. L'autre surrénale, laissée entière, a été mise dans un flacon avec 25 ou 30 cm³ de sérum physiologique et 2 cm³ de chloroforme. Le flacon était recouvert de papier noir pour supprimer l'action de la lumière. Après un temps variable de séjour à l'étuve à 37°, nous déterminions le taux de l'adrénaline.

Nous reproduisons dans ce tableau les résultats de nos dosages (*) :

	1 ^{re} surrénale	2 ^e surrénale	
	Adrénaline en mgr. par gramme	Durée du séjour à l'étuve	Adrénaline en mgr. par gramme
Chien 1	1,408	1 jour	1,380
Chien 2	1,425	1 jour	1,749
Chien 3	1,669	1 jour	1,980
Chien 4	0,926	1 jour	0,910
Chien 5	1,887	1 jour	1,887
Chien 6	2,463	2 jours	2,597
Chien 7	1,297	3 jours	1,244
Chien 8	1,165	5 jours	traces

(*) La plupart des chiens qui nous ont servi dans ces expériences avaient été au préalable soumis à divers traitements nécessités par les recherches effectuées dans le laboratoire. De là vient que certains chiffres d'adrénaline sont en dehors des limites normales de variation.

On voit que pour les chiens 2 et 3, les surrénales laissées à l'étuve renfermaient plus d'adrénaline (18 %) que les surrénales utilisées pour le dosage immédiat. La différence ne nous paraît pas assez élevée et le fait trop rare (2 chiens sur 8) pour conclure de façon certaine à une production d'adrénaline dans les conditions réalisées.

Par contre, 5 chiens présentent des taux très voisins entre les deux surrénales. Donc, le plus souvent, il n'y a pas de modification dans le taux de l'adrénaline dans les surrénales laissées à l'étuve pendant 1, 2 ou 3 jours.

Le résultat obtenu pour le chien 8 montre qu'un séjour plus prolongé à l'étuve entraîne la disparition de l'adrénaline.

La comparaison des résultats obtenus avec les surrénales de bœuf et avec les surrénales de chien montre que la destruction de l'adrénaline pendant un séjour de quelques jours à 37° est due à la division des glandes.

Nous avons voulu savoir si le broyage des tissus ou leur réduction en pulpe était vraiment nécessaire, si un simple contact de la médullaire avec le liquide de digestion n'était pas suffisant pour provoquer la destruction de l'adrénaline. Pour nous en rendre compte, nous avons fait, avec des surrénales de chien de nouvelles expériences semblables à celles que nous venons de rapporter, sauf que nous pratiquions avec un bistouri une simple entaille atteignant la médullaire de la glande laissée à l'étuve. Pour le chien 1 nous avons seulement pratiqué, à l'aide d'une aiguille, une piqûre longitudinale dans la capsule surrénale.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

	1 ^e surrénale	2 ^e surrénale	
	Adrénaline en mgr. par gramme	Durée du séjour à l'étuve	Adrénaline en mgr. par gramme
Chien 1	1,572	1 jour	0,072
Chien 2	1,495	2 jours	0,916
Chien 3	2,055	2 jours	2,000
Chien 4	2,344	3 jours	0,970

Pour 3 chiens sur 4, la diminution du taux de l'adrénaline est très nette.

CONCLUSION

Lorsque des glandes surrénales totales sont maintenues quelques jours à l'étuve à 37°, l'adrénaline disparaît rapidement si la substance médullaire est en contact avec le milieu extérieur. Lorsque la surrénale est laissée entière, le taux de l'adrénaline ne varie habituellement pas ; deux fois seulement, une légère augmentation a été constatée.

Il ne semble donc pas que des capsules surrénales isolées du corps de l'animal aient le pouvoir de s'enrichir en adrénaline lorsqu'elles sont maintenues dans du sérum physiologique à la température de 37°.

Corticale et médullaire séparées.

Nous avons réalisé cette série de recherches suivant une méthode différente de celle que nous avons adoptée pour la glande totale parce que des travaux sur cette question ont été effectués par J. E. Abelous et R. Argaud [1, 2 et 3]. Ces auteurs ont constaté que la partie corticale des surrénales s'enrichissait en adrénaline lorsqu'elle était agitée au contact de l'air. De ce fait, ils concluent à la présence, dans le cortex, d'adrénaline normalement dissimulée (ou « virtuelle ») et qui apparaît au cours de l'expérience. La zone corticale aurait un rôle prépondérant dans l'adrénalino-genèse, tandis que la médullaire ne serait qu'un simple entrepôt du produit d'élaboration de la corticale.

Il nous a paru intéressant de refaire ces expériences afin de déterminer si les résultats seraient les mêmes en dosant l'adrénaline suivant une technique différente.

Nous avons simplement suivi le protocole expérimental que J. E. Abelous et R. Argaud avaient adopté :

Il faut employer des capsules surrénales fraîches de

cheval (*), préférablement à d'autres, parce que les deux parties de la glande y sont facilement séparables. La zone corticale est soigneusement séparée de la zone médullaire. Les deux substances sont finement pulpées. Une partie des pulpes sert au dosage immédiat de l'adrénaline. Le reste est mis en suspension dans une solution de carbonate de soude à 3 % et agité pendant 4-5 heures à la température du laboratoire. On peut remplacer l'agitation par un barbotage d'air dans des flacons de Villiers, en ayant soin d'ajouter de l'alcool octylique pour éviter la production de mousse. C'est le procédé que nous avons adopté.

Après ce traitement, on dose l'adrénaline dans les deux parties de la glande. J. E. Abelous et R. Argaud ont effectué les dosages par la méthode de G. Comessati (au sublimé) et par la méthode de A. Zangfrognini (à l'oxyde de manganèse), après désalbumination.

Ils ont trouvé que la médullaire perd ainsi toute son adrénaline qui est détruite par oxydation. Dans la corticale, au contraire, ils ont constaté une augmentation constante du taux de l'adrénaline. Ils publient ces chiffres choisis parmi d'autres analogues :

18 mgr. pour 100 gr. de pulpe corticale au début.

26 mgr. 2 pour 100 gr. au bout de 4 heures.

Un mélange des parties corticale et médullaire se comporte comme la médullaire seule, même si le poids de médullaire égale seulement le tiers du poids de la corticale.

En opérant de façon semblable sur les extraits aqueux de corticale et de médullaire, désalbuminés par l'acide sulfurique, puis neutralisés, J. E. Abelous et R. Argaud ont constaté de même une disparition de l'adrénaline dans l'extrait médullaire, une augmentation dans l'extrait cortical. En remplaçant l'agitation à l'air par un séjour au bain-marie à 40°, les résultats sont analogues.

(*) Nous sommes heureuse d'exprimer ici nos remerciements à M. Blanchard, Vétérinaire des Abattoirs Hippophagiques de Vaugirard, qui a bien voulu nous procurer les glandes surrénales nécessaires à nos travaux.

Enfin, J. E. Abelous et R. Argaud ont effectué des expériences semblables avec la poudre corticale dégraissée. Par agitation, l'adrénaline disparaît. Mais si la poudre dégraissée de corticale est additionnée des graisses extraites par le toluène et redissoutes dans l'éther de pétrole, la quantité d'adrénaline décelable par voie chimique est augmentée après barbotage d'air.

J. E. Abelous et R. Argaud supposent donc que l'adrénaline virtuelle est de l'adrénaline combinée aux lipoides. Sa libération dans les expériences précédentes serait due à une action catalytique exercée par la substance corticale.

Notons aussi que J. E. Abelous et son collaborateur ont mesuré l'action de l'extrait cortical sur la pression artérielle avant et après oxydation. Elle s'est révélée semblable dans les deux cas et assez élevée. J. E. Abelous et R. Argaud pensent que l'adrénaline combinée aux lipoides n'est pas décelable par les réactifs chimiques, mais qu'elle possède cependant la même action hypertensive que l'adrénaline libre.

Nous avons répété les expériences de J. E. Abelous et R. Argaud effectuées directement avec la pulpe fraîche. Nous avons fait les dosages d'adrénaline tantôt par l'iode, tantôt par le sublimé.

Lorsqu'on met en train le barbotage d'air dans la suspension de médullaire, le mélange devient rose en quelques secondes puis rouge et passe ensuite très rapidement au brun. La teinte brune atteint son maximum en 15-20 minutes et demeure la même jusqu'à la fin de l'expérience. Après défécation, soit par l'acide trichloracétique, soit par l'acide sulfurique, on obtient une solution fortement colorée en brun.

Il en est de même pour le mélange de corticale et de médullaire.

Il faut de toute évidence attribuer ces colorations à l'oxydation de l'adrénaline. Elle est due au barbotage d'air et très favorisée par la réaction alcaline du milieu.

J. E. Abelous et R. Argaud n'expliquent pas pourquoi

ils ont choisi une solution de carbonate de soude comme liquide de suspension. Un tel milieu possède une réaction fortement alcaline qui n'est pas celle des tissus vivants. Nous sommes surprise que J. E. Abelous et R. Argaud n'aient pas plutôt cherché à reproduire les conditions réalisées dans l'organisme vivant, pour effectuer des recherches de cet ordre.

Quant à la suspension de pulpe corticale, sa coloration n'est pas sensiblement modifiée par le barbotage d'air et l'extrait obtenu ensuite présente seulement une légère coloration jaune.

Avant barbotage, les dosages révèlent la présence d'une quantité élevée d'adrénaline dans la partie médullaire, et d'une quantité beaucoup plus faible dans la corticale.

Après barbotage, nous avons constaté que le dosage de l'adrénaline est très difficile ou impossible à réaliser dans les extraits médullaires, à cause de leur coloration brune. L'iode comme le sublimé agissent en renforçant quelque peu cette coloration et la comparaison avec la teinte violette ou rouge des solutions étalon ne peut être faite dans de bonnes conditions, parce que l'identité des teintes ne peut jamais être obtenue. Notons pourtant que la différence entre les teintes est moins grande dans les réactions au sublimé que dans les réactions à l'iode.

Nous avons obtenu, pour la pulpe médullaire, les résultats suivants (en mgr. par gramme de tissu) :

	Avant barbotage	Après barbotage
Méthode à l'iode	12 mgr. 96	9 mgr. 85
— —	15,40	3,60
— —	11,50	?
— —	8,85	?
Méthode au sublimé	7,18	?
— —	18,18	1,80
— —	14,18	?

Dans les extraits corticaux, le dosage de l'adrénaline n'est pas plus facile à réaliser. Sans doute, ils ne présen-

tent pas la même coloration brune que les extraits médullaires ; mais la teinte produite par l'iode ou le sublimé, toujours très faible, est jaunâtre et non pas rose comme avant le barbotage. Souvent, nous avons renoncé à établir un rapport colorimétrique entre l'étalon et la solution à titrer ; d'autres fois nous avons pu obtenir un chiffre, en réalisant très approximativement une intensité égale des deux colorations rose et jaune.

Voici les résultats de ces dosages, pour les extraits corticaux :

	Avant barbotage	Après barbotage
Méthode à l'iode	0,17	?
— — —	0,46	0,36
— — —	0,43	?
— — —	1,18 (*)	0,33
Méthode au sublimé	0,32	0,26
— — —	0,39	?
— — —	4,63 (*)	0,29

De tels résultats sont tout à fait différents de ceux qui ont été obtenus par J. E. Abelous et R. Argaud. Les chiffres obtenus après le barbotage d'air sont toujours inférieurs à ceux obtenus auparavant, aussi bien pour la corticale que pour la médullaire. Nous considérons d'ailleurs que ces chiffres n'ont qu'une valeur approximative à cause des difficultés présentées par le dosage.

Pour la médullaire, la teinte brune produite par l'adrénaline oxydée s'oppose à un dosage correct de l'adrénaline.

Pour la corticale, nous pensons que, s'il n'y a pas production d'une semblable coloration brune, c'est parce que l'adrénaline n'y est contenue qu'en très faible proportion. L'oxydation produit simplement la teinte jaune que nous avons constatée.

(*) Ces expériences ont été effectuées avec des glandes conservées quelques jours à la glacière, de sorte qu'il y a eu diffusion partielle de l'adrénaline de la médullaire dans la corticale. Ainsi s'expliquent ces chiffres relativement élevés.

Nous avons également effectué quelques expériences consistant à maintenir les extraits corticaux désalbuminés au bain-marie à 40° pendant 30 minutes environ. Les dosages présentent encore les mêmes difficultés qu'après le barbotage d'air. Nous avons obtenu les résultats suivants :

	Avant séjour au B.-M.	Après séjour au B.-M.
Méthode à l'iode	0,43	0,32
Méthode au sublimé	0,39	0,51
— —	4,63 (*)	1,75
— —	4,63 (*)	2,31

Dans ces 4 expériences, il y a une seule augmentation dans le taux de l'adrénaline. Nous ne croyons pas que cet unique résultat suffise à prouver une libération d'adrénaline, à cause des difficultés présentées par le dosage et du caractère toujours approximatif des résultats.

CONCLUSION

Dans ces diverses expériences, nous avons obtenu des résultats nettement différents de ceux de J. E. Abelous et R. Argaud. Nous n'avons pas constaté d'augmentation de l'adrénaline dans les dosages effectués sur la pulpe corticale avant et après barbotage d'air ou séjour au B. M. Sans nier la réalité de l'adrénaline virtuelle, nous estimons qu'il est impossible de déceler sa libération dans de semblables expériences, parce que les dosages colorimétriques d'adrénaline ne peuvent être pratiqués dans de bonnes conditions, à cause de la présence d'adrénaline oxydée dans les extraits.

Nous n'avons pas jugé nécessaire d'effectuer un plus grand nombre d'expériences, les difficultés et les causes d'erreur demeurant toujours les mêmes.

(*) Voir note, p. 58.

CHAPITRE V

Le taux de l'adrénaline dans les capsules surrénales du chien.

Dans cette partie de notre travail, nous avons déterminé le taux d'adrénaline dans les capsules surrénales du chien normal.

Nous avons ensuite étudié les variations de ce taux, lorsque le chien est soumis à des troubles respiratoires, ou à une hyperthermie provoquée par un agent chimique, et enfin chez le chien ayant subi l'ablation de certaines glandes endocrines : pancréas, glande thyroïde, glandes parathyroïdes.

Adrénaline chez le chien normal.

Nos déterminations ont porté sur 12 chiens adultes, mâles ou femelles, d'un poids variant de 11 à 22 kilogrammes.

Les chiens étaient endormis par injection, dans la veine saphène, de chloralose à la dose de 0 gr. 10 par kilog. d'animal. 30 minutes au moins après le début de l'anesthésie, le chien était tué par saignée à blanc. Les deux capsules surrénales étaient aussitôt prélevées et soigneusement privées du tissu adipeux les accompagnant. Après pesée, nous pratiquions sur ces glandes le dosage de l'adrénaline selon la méthode de G. Weller.

Nous rapportons ici les résultats de ces dosages, en les classant en ordre de grandeur croissante. L'adrénaline y

est exprimée en milligrammes par gramme de glande fraîche.

	Poids de l'animal en kilogr	Adrénaline en mgr. par gramme
Chien	19,5	1,161
Chien	17	1,309
Chienne	18	1,328
Chienne	11	1,340
Chien	22	1,361
Chien	19	1,385
Chienne	14,7	1,390
Chien	20	1,406
Chien	13	1,536
Chien	18	1,622
Chien	18	1,716
Chien	13	1,739

Le taux moyen calculé d'après les chiffres ci-dessus est de 1 mgr. 441 d'adrénaline par gramme de surrénale.

G. Weller [30] qui a également dosé l'adrénaline chez le chien normal, par la même méthode, a obtenu comme taux moyen : 1 mgr. 482 par gramme ; il est très proche de celui que nous présentons.

Taux de l'adrénaline et troubles respiratoires

A. — Chiens soumis à une asphyxie par une oblitération mécanique de la trachée.

Les chiens étaient préalablement anesthésiés par le chloralose, à la dose de 0 gr. 10 par kilog. d'animal. La trachée était ensuite dénudée, et l'asphyxie était simplement réalisée en mettant une pince sur la trachée. Suivant que nous désirions une asphyxie plus ou moins rapide, nous serrions la pince de telle sorte que le passage de l'air soit complètement ou partiellement empêché. L'expérience était poursuivie jusqu'à la mort de l'animal. Nous prélevions alors immédiatement les surrénales pour effectuer le dosage de l'adrénaline.

Nous rapportons dans le tableau ci-dessous les résultats que nous avons obtenus :

	Poids du chien en kilogr.	Sexe	Durée de l'expé- rience en minutes	Adrénaline en mgr. par gramme
1	9	♂	6	2,344
2	25		8	2,053
3	19,5		13	2,313
4	11,5		20	2,399
5	8		30	2,565
6	23		35	1,885
7	15		45	1,635
8	24,6		45	1,228
9	21,5		60	2,857
10	18,6		65	1,600
11	14		90	1,258
12	19		120	1,380

Pour le chien normal, comme nous l'avons rapporté dans le chapitre précédent, le taux de l'adrénaline varie de 1 mgr. 161 à 1 mgr. 749 par gramme.

Sur les 12 chiens étudiés ici, sept ont présenté un taux d'adrénaline supérieur à la normale et les cinq autres un taux normal.

Dans ce tableau, les résultats sont classés suivant l'ordre croissant de durée des expériences. Il apparaît très nettement que pour une durée de 6 à 30 minutes, le chiffre de l'adrénaline est régulièrement très élevé. Pour une durée de 35 minutes, il est légèrement supérieur au chiffre normal. Enfin pour les durées plus prolongées, le taux reste dans les limites normales, à l'exception du chien 9.

Pour ce chien 9, la pince a d'abord été peu serrée sur la trachée. 50 minutes après le début de l'expérience, le chien tolérant parfaitement la réduction du calibre de sa trachée, nous avons serré beaucoup plus fortement celle-ci. Le chien est mort 10 minutes plus tard. Les conditions de cette expérience expliquent sans doute le résultat obtenu. Il serait peut-être plus exact de considérer cette asphyxie comme de courte durée. Tout au moins l'expérience peut être tenue pour suspecte.

Nous concluons donc que lorsqu'un chien meurt par suite d'une asphyxie mécanique, le taux de l'adrénaline dans les glandes surrénales est nettement supérieur au taux normal, si l'asphyxie a été d'une durée inférieure ou égale à 35 minutes. Lorsque l'asphyxie est plus lente, le taux de l'adrénaline est normal.

B. — *Chien soumis à la dépression barométrique*

Les chiens étaient anesthésiés au chloralose administré à la dose habituelle. L'expérience était commencée une heure environ après le début de l'anesthésie. L'anoxémie était réalisée grâce au caisson pneumatique du Centre Médical de l'Aréonautique Militaire (*). Cet appareil d'une capacité de huit mètres cubes permet de réaliser des dépressions barométriques correspondant à une altitude théorique allant jusqu'à 14.000 mètres. L'aspiration réalisée par une machine pneumatique est assez puissante pour obtenir une ascension de 1.000 mètres en trente secondes, lorsque toutes les ouvertures sont fermées. Pratiquement une vanne est maintenue entr'ouverte de façon à permettre le renouvellement continu de l'air, évitant ainsi de laisser l'animal en atmosphère confinée. Le réglage de cette vanne se fait par un volant extérieur, et, suivant le degré d'ouverture maintenu, l'ascension est plus ou moins lente. Afin d'éviter les remous produits par cette rentrée d'air, un volet est aménagé à l'intérieur du caisson.

Un manomètre à mercure relié à l'intérieur du caisson par un tube en caoutchouc à vide donne, par une simple lecture, l'altitude théorique réalisée. En même temps, un barographe inscripteur, placé à l'intérieur du caisson, permet d'obtenir un graphique pendant toute la durée de l'expérience.

Bien entendu, des hublots sont pratiqués sur les parois

(*) Nous tenons à exprimer notre sincère reconnaissance à M. le Médecin Général Beyne et à M. le Médecin Commandant Bergeret. C'est grâce à leur obligeance que nous avons pu utiliser cet appareil.

du caisson afin de surveiller directement les réactions de l'animal.

Les dimensions de ce caisson sont suffisantes pour placer un cylindre enregistreur pour la pression artérielle. Les mouvements sont commandés de l'extérieur par des boutons électriques.

L'animal en expérience était progressivement amené à une altitude nettement anoxémiante de 10.000 à 11.000 mètres et une fois à 12.500 mètres. Cette ascension doit être réalisée avec un soin particulier. En effet, un dénivèlement de 1.000 mètres en moins d'une minute provoque des troubles marqués d'ordre mécanique, sans que l'anoxémie puisse être incriminée, puisqu'ils s'observent même à 1.000 mètres d'altitude. La plupart de nos animaux étaient amenés en une vingtaine de minutes à l'altitude de 10.000 mètres, et y étaient maintenus en palier pendant un temps qui a varié suivant les chiens de 5 à 37 minutes. Il suffit pour maintenir une altitude constante d'augmenter la rentrée d'air par la vanne, le moteur continuant à tourner.

Les différences individuelles observées sur nos animaux nous obligeaient à régler la dépression sur les réactions présentées. Généralement on voit le rythme respiratoire s'accélérer avec la diminution de la pression, puis devenir irrégulier lorsqu'elle est très poussée. Parfois, des pauses respiratoires nous forçaient à arrêter la décompression ou même à ramener nos animaux à la pression atmosphérique. La recompression a été réalisée en un temps variant entre une minute 30 secondes et 8 minutes.

Le chien était alors immédiatement saigné, puis les deux surrénales étaient prélevées. Le dosage de l'adrénaline était effectué suivant la méthode habituelle.

Les caractéristiques de nos expériences et les résultats obtenus dans le dosage de l'adrénaline figurent dans le tableau ci-dessous :

	Poids du chien en kilogr.	Sexe	Durée de l'expé- rience en min.	Temps passé à 8.000 m. et au-dessus	Altitude maxima en mètres	Adrénaline en mgr. par gr.
1	14	Ouf Ouf Ouf Ouf Ouf Ouf Ouf Ouf Ouf	36	19	10.800	1
2	10,5		15	3,30 s.	10.000	1,258
3	14,5		20,30 s.	11	11.000	1,466
4	15,4		53	32	10.000	1,656
5	17,6		61	42	10.000	2,008
6	21,9		36	20	11.000	2,055
7	11,9		60	41,30 s.	12.500	2,575
8	14		27	16,30 s.	10.000	2,691
9	13		64	43,30 s.	11.000	3,446

Si l'on compare les taux d'adrénaline rapportés dans ce tableau aux taux normaux que nous avons indiqués précédemment comme variant de 1 mgr. 161 à 1 mgr. 739, il apparaît que le premier chiffre est légèrement inférieur à la normale, que les trois suivants sont normaux, et que les cinq derniers sont nettement supérieurs au taux normal.

On en déduit que l'anoxémie cause une élévation du taux de l'adrénaline dans les glandes surrénales, mais que ce fait n'est pas constant.

On peut encore faire quelques autres remarques. Les animaux utilisés ici sont 7 chiens et 2 chiennes. Il a été déjà reconnu par plusieurs physiologistes que les chiennes réagissent de façon irrégulière à l'anoxémie. Ici nous voyons qu'il a été trouvé une quantité normale d'adrénaline pour l'une d'elles et une quantité faible pour l'autre.

Si nous considérons ensuite les résultats obtenus pour les seuls chiens, nous remarquons que 5 sur 7 ont un taux d'adrénaline très nettement supérieur au taux normal. Pour les 2 autres (chiens 2 et 3) les chiffres sont compris entre les limites de variation normales. Or, pour ces 2 chiens, l'expérience a été réalisée avec une très grande rapidité, puisque les chiens ont été maintenus à une altitude égale ou supérieure à 8.000 mètres, seulement pendant 3 minutes 30 secondes pour l'un et 11 minutes pour l'autre. Nous croyons pouvoir en déduire que l'anoxémie

n'a pas été assez prolongée pour qu'elle ait un retentissement sur l'adrénaline des surrénales.

Pour les 5 autres chiens, les résultats enregistrés pour l'adrénaline sont notablement supérieurs aux variations normales, certains même valent deux fois ou davantage le chiffre normal moyen. Ici le rapport entre la durée d'expérience et la quantité d'adrénaline n'est pas constant. Il faut pourtant remarquer que le chiffre le plus élevé d'adrénaline, 3 mgr. 446, est celui de l'expérience la plus prolongée.

Nous résumerons ces considérations en disant que, chez les chiens soumis à la dépression barométrique, nous avons constaté une augmentation du taux de l'adrénaline dans les capsules surrénales, lorsque la durée de l'expérience (durée totale) a été supérieure à 20 minutes. Chez les deux chiennes mises en expérience, les résultats obtenus n'ont pas été conformes à ces règles.

Taux de l'adrénaline et hyperthermie provoquée.

Divers procédés sont utilisés en expérimentation pour déclencher une hyperthermie chez les mammifères : utilisation d'une enceinte surchauffée ou de divers foyers de chaleur placés à proximité de l'animal, mise en jeu des ondes courtes, piqûres du système nerveux central, injection intra-veineuse d'une macération de levure de bière, d'eau distillée, de globules laqués ; des agents chimiques hyperthermisants ont été également employés ; citons entre autres le bleu de méthylène, la thionine, l'azur de méthylène, le dinitro- α -naphtol, le bleu de toluyène, la β -tétrahydronaphtylamine, le dinitrophénol 1-2-4 ou thermol.

C'est cette dernière substance que nous avons utilisée pour provoquer l'hyperthermie chez le chien, sous forme de solution aqueuse à 1 %, en injection intra-veineuse.

Nous avons conduit nos expériences de la façon suivante : le chien était anesthésié par le chloralose injecté dans

la veine saphène, à la dose de 0 gr. 10 par kilog. Une heure après environ, on procédait à une première injection de dinitrophénol 1-2-4, dans une proportion voisine de 1 cm³ 25 par kilog. d'animal. Le chien était couvert pour éviter les déperditions de chaleur. Il ne tardait pas à s'échauffer. Nous notions régulièrement la température anale, dont la progression était toujours assez constante. Si elle se ralentissait, nous procédions à une deuxième injection de thermol de 2 à 3 cm³.

A mesure que la température s'élevait, les mouvements respiratoires étaient accélérés et amplifiés, jusqu'aux dernières minutes précédant la mort où la respiration devenait plus pénible et irrégulière.

L'expérience se terminait par la mort de l'animal, nous notions à ce moment la température atteinte et nous prélevions immédiatement les surrénales pour effectuer le dosage de l'adrénaline.

Nos expériences ont porté toutes sur des chiens mâles. Nous les résumons dans le tableau ci-dessous :

	Poids du chien en kgr.	Poids total de thermol injecté en grammes	Durée de l'expérience	Température maxima	Adrénaline en mgr. par gramme
1	8,5	0,10	1 h. 5'	42°4	1,572
2	9	0,11	2 h. 15'	43°8	0,926
3	12,5	0,135	2 h. 25'	43°9	0,88
4	9	0,12	2 h. 25'	44°	1,691
5	13,5	0,175	2 h. 25'	44°4	1,408
6	9,5	0,14	55'	44°5	1,641
7	11	0,17	2 h. 35'	44°7	2,196
8	13	0,15	2 h. 15'	44°9	3,636

Dans ce tableau, nos expériences sont placées en suivant l'ordre croissant des températures maxima atteintes, qui ont toujours été celle que l'animal présentait au moment de la mort.

Si nous considérons les taux d'adrénaline dans les glandes surrénales, nous constatons que, sur les 8 chiens étudiés, 2 présentent un taux inférieur au taux normal

(chiens n^{os} 2 et 3), et 2 autres un taux supérieur (chiens n^{os} 7 et 8). Les quantités d'adrénaline enregistrées chez les autres animaux sont comprises entre les limites de variation normales.

Ces résultats peuvent être interprétés ainsi : lorsque la température finale du chien ne dépasse pas 44°5, le taux d'adrénaline reste normal ou parfois faible. Lorsque cette température est supérieure à 44°5, le taux dépasse sensiblement les limites de variation normales, et d'autant plus que la température est plus élevée. La quantité d'adrénaline que nous avons trouvée pour la température de 44°9, atteint la proportion considérable de deux fois et demie la quantité moyenne chez le chien normal. C'est le chiffre le plus élevé que nous ayons eu l'occasion d'enregistrer au cours de nos recherches.

Il nous paraît intéressant de rappeler ici les faits histophysiologiques observés par Léon Binet et Jean Verne [11] chez les chiens soumis au thermol : ces auteurs ont enregistré, au niveau des capsules surrénales, un aspect d'hyperfonctionnement et, en particulier, la réaction chromaffine de Henle, due à l'adrénaline, a été très forte dans la médullaire.

Syndromes endocriniens.

A. — *Adrénaline et parathyroïdectomie*

Remarquons tout d'abord que, chez le chien, la parathyroïdectomie ne peut être totale que si l'on pratique en même temps la thyroïdectomie. En effet, le chien possède 4 glandes parathyroïdes : deux d'entre elles, les parathyroïdes supérieures, sont situées sur la partie supérieure et en dehors du lobe thyroïdien ; les deux autres, les parathyroïdes inférieures, sont presque constamment incluses dans le parenchyme thyroïdien : leur ablation entraîne donc nécessairement celle de la glande thyroïde.

Totalement parathyroprivé, le chien est voué à la mort ;

celle-ci survient une semaine en moyenne après l'intervention ; mais si l'on pratique seulement l'ablation des parathyroïdes supérieures, l'animal peut demeurer en bonne santé.

Après la parathyroïdectomie totale, le chien devient triste et inquiet ; il se déplace difficilement, par suite d'un défaut de souplesse. A partir du troisième jour, apparaissent les accidents tétaniques caractéristiques de son état.

Une des caractéristiques biochimiques les plus remarquables chez l'animal parathyroprivé est la baisse du calcium sanguin, baisse qui apparaît constante et accentuée si la parathyroïdectomie a été totale. A cause de cela, la glande parathyroïde est considérée par la majorité des biologistes comme l'organe régulateur du calcium sanguin.

Nous avons effectué le dosage de l'adrénaline chez 12 chiens parathyroïdectomisés par M. Léon Binet.

La plupart de nos chiens ont été sacrifiés par saignée entre le 3^e et le 10^e jour après l'intervention. La saignée était faite après anesthésie au chloralose.

Les chiens n^{os} 2, 6, 9 et 10 sont morts spontanément. Nous avons prélevé les capsules surrénales très rapidement après leur mort.

Le dosage de l'adrénaline, effectué selon la méthode de G. Weller, a donné les résultats suivants :

	Poids de l'animal en kgr.	Temps écoulé depuis la parathyroï- dectomie	Ca Sanguin en gr. par litre	Adrénaline en mgr. par gramme
Chienne 1	16,3	3 jours	0,076	0,344
Chien 2	20	3 —	0,090	1,516
Chien 3	18	3 —	0,071	1,743
Chien 4	13	4 —	0,080	1,199
Chien 5	12,5	5 —	—	1,269
Chienne 6	12,9	5 —	0,040	1,174
Chien 7	15,4	5 —	0,053	1,155
Chien 8	26	6 —	—	1,679
Chien 9	15,4	8 —	—	0,617
Chien 10	7,3	9 —	0,046	1,286
Chien 11	19	10 —	0,059	0,896
Chien 12	16,2	14 —	0,104	1,618

Le taux moyen d'adrénaline pour les 11 premiers chiens est de 1 mgr. 170. Nous ne comptons pas le chien n° 12 dans cette moyenne parce qu'il n'a présenté aucun des caractères des chiens parathyroprivés, que son calcium sanguin est resté normal : il faut probablement expliquer cette tolérance à la parathyroïdectomie par la présence de glandes aberrantes ou accessoires qui ont été conservées.

Le taux moyen d'adrénaline est sensiblement inférieur à celui que nous avons trouvé chez le chien normal (1 mgr. 441). Il faut remarquer que chez 3 chiens seulement (chiens n°s 1, 9 et 11), la teneur des glandes surrénales en adrénaline est notablement inférieure aux limites normales de variation. Or ces trois animaux sont précisément les seuls qui aient présenté des crises de tétanie le jour de leur mort : les autres chiens, à l'exception du chien n° 12, ont eu aussi des crises, mais elles sont apparues seulement dans les jours qui ont précédé leur mort.

Ces faits nous font supposer que la baisse du taux de l'adrénaline est une conséquence directe de la crise tétanique, et que la teneur en adrénaline se rapproche du taux normal, à mesure que la crise s'éloigne.

B. — *Adrénaline et thyroïdectomie*

Ainsi que nous l'avons dit au sujet de la parathyroïdectomie, deux des parathyroïdes sont incluses chez le chien dans la glande thyroïde. Elles sont donc forcément enlevées lorsqu'on pratique la thyroïdectomie totale. Mais si l'animal conserve les parathyroïdes supérieures, les conséquences de la parathyroïdectomie n'apparaissent pas : l'opération n'entraîne pas la mort, et l'animal ne présente ni accès de tétanie, ni hypocalcémie. Les troubles présentés par les chiens privés de thyroïdes peuvent donc être considérés comme des conséquences de l'ablation de cette glande. Ils ne sont pas très considérables chez l'animal adulte et ne se traduisent extérieurement chez le chien que par une légère apathie et quelques modifications dans le pelage [8].

Nous avons dosé l'adrénaline dans les capsules surré-

nales chez 4 chiens thyroprivés seulement. Les interventions ont été pratiquées par L. Barraya [8]. Après l'opération, les chiens furent simplement soumis à une bonne hygiène, sans soins spéciaux ni médication quelconque.

Ils ont été sacrifiés 4 mois à 5 mois 1/2 après la thyroïdectomie, par saignée après anesthésie au chloralose.

Nous avons pratiqué le dosage de l'adrénaline dans les surrénales aussitôt après leur prélèvement. Les résultats que nous avons obtenus figurent dans le tableau ci-dessous :

	Poids de l'animal en kgr.	Temps écoulé depuis la thyroïdectomie	Adrénaline en mgr. par gramme
Chien 1	10	5 mois 11 jours	1,587
Chien 2	25	5 mois 2 jours	2,841
Chien 3	16	4 mois 14 jours	1,892
Chien 4	22	4 mois 7 jours	2,160

Taux moyen d'adrénaline : 2 mgr. 12 par gramme.

La teneur en adrénaline est toujours supérieure à la moyenne normale (1 mgr. 441). L'élévation est surtout remarquable chez les chiens n^{os} 2 et 4.

Notons que chez le chien n^o 1, il fut impossible de retrouver les parathyroïdes après la mort. Cependant la calcémie était demeurée normale. Il faut supposer qu'il était resté une parathyroïde aberrante ou accessoire qui n'a pu être identifiée lors de la recherche.

C.— Adrénaline et dépancréatectomie

Enfin, à cause des discussions physiologiques portant sur les relations fonctionnelles entre le pancréas endocrinien et l'adrénalinosécrétion, nous avons déterminé qu'elle était la quantité d'adrénaline dans les capsules surrénales du chien après l'ablation totale du pancréas.

Nos expériences ont porté sur 9 chiens qui ont été opérés par M. Léon Binet.

Ces chiens ont été sacrifiés après un temps de 1 à 6 jours après l'intervention, par saignée après anesthésie au chloralose.

Nous avons dosé l'adrénaline dans les glandes surrénales par la méthode de G. Weller.

Le taux de la glycémie le jour de la mort a été recherché par M^{lle} M. Marquis ou par M. Nemattoullahi.

Les protocoles expérimentaux sont rapportés dans le tableau ci-dessous. Les résultats y figurent suivant l'ordre de grandeur croissante de la teneur en adrénaline :

	Poids de l'animal en kgr.	Temps écoulé depuis le pancréatec- tomie	Glucose sanguin en gr. par litre	Adrénaline en mgr. par gramme
Chien 1	—	2 jours	2,50	1,297
Chien 2	—	3 —	2,77	1,454
Chien 3	15	1 —	3,15	1,573
Chien 4	10	2 —	3,81	1,669
Chien 5	9	5 —	3,86	1,859
Chien 6	9	3 —	2,63	1,936
Chien 7	9	6 —	7,59	1,991
Chien 8	11	2 —	2,11	2,944
Chien 9	8	3 —	2,48	3,096

Le taux moyen de l'adrénaline est de 2 mgr. 09 par gr., donc très sensiblement supérieur au taux normal (1,441).

CONCLUSION.

De cette série de recherches portant sur 12 chiens normaux et sur 54 chiens expérimentés, nous pouvons conclure :

1° Le taux de l'adrénaline dans les capsules surrénales du chien normal a oscillé de 1 mgr. 161 à 1 mgr. 739 par gramme de tissu frais. Moyenne : 1 mgr. 441.

2° L'asphyxie mécanique détermine une augmentation du taux de l'adrénaline lorsqu'elle est réalisée en un temps inférieur à 40 minutes. Le chiffre maximum que nous avons constaté a été de 2 mgr. 565.

3° La dépression barométrique, réalisée dans des conditions parfaites, déclenche, *quand elle est suffisamment prolongée*, une élévation considérable du taux de l'adrénaline, puisque nous avons pu déceler le chiffre de 3 mgr. 446.

4° L'hyperthermie provoquée, réalisée à l'aide du dinitrophénol 1-2-4, détermine, *lorsqu'elle est intense*, une hyperformation d'adrénaline. Le taux maximum que nous avons enregistré a été de 3 mgr. 636.

5° Enfin parmi les états endocriniens expérimentaux que nous avons étudiés, nous soulignons une élévation du taux de l'adrénaline :

2 mgr. 841 chez le chien thyroprivé.

3 mgr. 096 chez le chien dépancréaté.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

De nos recherches expérimentales, nous dégageons les conclusions suivantes :

I. — Parmi les diverses méthodes de dosage de l'adrénaline dans les capsules surrénales fraîches, la méthode à l'iode de G. Weller nous a paru la meilleure : elle réalise une extraction totale de l'adrénaline ; la réaction colorée servant de base au dosage est parmi les plus sensibles. La méthode donne d'excellents résultats lorsqu'elle est appliquée aux capsules surrénales fraîches de chien.

II. — L'iode, qui est l'agent colorant employé dans la méthode de G. Weller, donne aussi des réactions colorées avec la l. dioxyphénylalanine, le tryptophane et l'indol. Ces deux dernières substances peuvent exister dans les tissus autolysés et fausser les résultats du dosage de l'adrénaline. Elles n'existent pas dans les capsules surrénales fraîches.

III. — La méthode chimique de dosage de G. Weller et la méthode physiologique par la mesure de la pression artérielle donnent des résultats concordants.

IV. — Si les capsules surrénales sont maintenues plusieurs jours dans du sérum physiologique à 37°, le taux d'adrénaline demeure habituellement constant. Il baisse au contraire rapidement si la zone médullaire est en contact avec le milieu extérieur.

Lorsque les tissus corticaux et médullaires sont soumis

à l'agitation en milieu carbonaté, l'adrénaline est oxydée et ne peut plus être dosée correctement, ni par la méthode au sublimé, ni par la méthode à l'iode. Nous n'avons jamais pu constater dans ces conditions de libération complémentaire d'adrénaline.

V. — Nous avons effectué le dosage de l'adrénaline chez 12 chiens normaux et 54 chiens expérimentés :

a) Chiens normaux :

Minimum	1 mgr. 161	par gramme
Maximum	1 mgr. 739	—
Moyenne des résultats	1 mgr. 441	—

b) L'asphyxie mécanique détermine une augmentation de l'adrénaline lorsqu'elle est réalisée en un temps inférieur à 40 minutes. Chiffre maximum : 2 mgr. 565.

c) La dépression barométrique suffisamment prolongée produit une élévation du taux de l'adrénaline. Chiffre maximum : 3 mgr. 446.

d) L'hyperthermie intense provoquée par le dinitrophénol 1-2-4, provoque une hyperformation d'adrénaline. Chiffre maximum : 3 mgr. 636.

e) La thyroïdectomie et la pancréatectomie expérimentales déterminent une élévation du taux de l'adrénaline.

Chiffres maxima : 2 mgr. 841 chez le chien thyroprivé.
3 mgr. 096 chez le chien dépancréaté.

Vu : bon à imprimer :
Le Président de la thèse,
R. FABRE.

Vu : le Doyen de la Faculté,
P. GUÉRIN.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE

1. ABELOUS (J. E.) et ARGAUD (R.). — Sur la formation de l'adrénaline dans la glande surrénale. *C. R. Acad. des Sc.*, 1932, **195**, 338.
2. — Sur la formation de l'adrénaline dans les glandes surrénales. Adrénaline combinée ou virtuelle et adrénaline libre. *C. R. Acad. des Sc.*, 1934, **199**, 318.
3. — Sur la formation de l'adrénaline dans la glande surrénale. Rôle des lipides et des lipoides dans l'adréalinogénèse. *C. R. Acad. des Sc.*, 1934, **199**, 335.
4. ABELOUS (J. E.), SOULIÉ (A.) et TOUJAN (G.). — Dosage colorimétrique par l'iode de l'adrénaline. *C. R. Soc. de Biol.*, 1905, **58**, 301.
5. BAILLY (O.). — Application de la réaction de Deniges-Grimbert-Leclère à la caractérisation et au dosage de l'adrénaline dans les poudres de surrénales. *J. Pharm. et Chim.*, 1924, **30**, 404.
6. BAKER (L. C.) et MARRIAN (F.). — A note on the estimation of adrenaline. *Bioch. J.*, 1927, **21**, 1005.
7. BARKER (J. H.), EASTLANDS (C. J.) et EVERS (N.). — The colorimetric determination of adrenaline in suprarenal gland extracts. *Bioch. J.*, 1932, **26**, 2129.
8. BARRAYA (L.). — La thyroïdectomie totale. Thèse Méd. Paris, 1936.
9. BATELLI (F.). — Dosage colorimétrique de la substance active des capsules surrénales. *C. R. Soc. de Biol.*, 1902, **54**, 571.
10. BAYER (G.). — Methoden zur Verschärfung von Adrenalin und Brenzcatechinreaktionen. *Biochem. Zeitschr.*, 1904, **20**, 178.
11. BINET (Léon). — Réactions physiologiques à l'hyperthermie expérimentale. 1^{er} Congrès français de Thérapeutique. Paris, 23-25, octobre 1933, 469.
12. BINET (Léon) et WELLER (G.). — Sur le dosage de l'adrénaline dans les glandes surrénales fraîches. *C. R. Soc. de Biol.*, 1934, **115**, 598.
13. COMESSATTI (G.). — Beitrag zur Kenntnis der drucksteigernden Substanzen. Eine spezifische Reaktion des Adrenalins. *Munch. Med. Woch.*, 1908-1926.

14. DENIGES (G.). — Application et extension aux alcaloïdes morpholiques et à l'adrénaline de la réaction de Grimbert-Leclère. *Bull. Soc. de Pharm. Bordeaux*, 1918, **56**, 185.
15. EWINS (A. J.). — Some colour reactions of adrenine and allied bases. *J. of Physiol.*, 1910, **40**, 317.
16. FOLIN (O.), CANNON (W. B.) et DENIS (W.). — A new colorimetric method for the determination of epinephrine. *J. Biol. Chem.*, 1913, **15**, 197.
17. FRANKEL (S.) et ALLERS (R.). — Ueber eine neue charakteristische Adrenalinreaktion. *Bioch. Zeitschr.*, 1909, **18**, 40.
18. GLEY (P.). — Contribution à l'étude des fonctions des surrénales. Thèse Méd. Paris, 1925.
19. JOURNAL OFFICIEL. — 26 novembre 1935. Poudre de surrénales.
20. KRAWKOW. — Ueber die Grenzen der Empfindlichkeit des lebenden Protoplasmas. *Zeitschr. Ges. Exp. Med.*, 1923, **34**.
21. LEULIER (A.) et GOJON (P.). — Sur la teneur en adrénaline des capsules surrénales de différents mammifères. *C. R. Soc. de Biol.*, 1927, **96**, 547.
22. LEULIER (A.) et RÉVOL (L.). — Etude comparée de la zone corticale et de la zone médullaire des capsules surrénales de mammifères. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1931, **13**, 211.
23. MOURRIQUAND (G.) et LEULIER (A.). — L'adrénaline existe-t-elle à l'état libre dans les capsules surrénales fraîches ? *C. R. Acad. des Sc.*, 1926, **183**, 1353.
24. PAGET (M.). — Etude de l'adrénaline des surrénales. Facultés catholiques. Lille, 1931.
25. PAGET (M.) et LOHÉAC (P.). — Technique de la recherche de l'adrénaline dans les capsules surrénales humaines après la mort. *C. R. Soc. de Biol.*, 1928, **98**, 1421.
26. PISSEMSKY. — Sur les méthodes employées dans l'étude des substances hypertensives et hypotensives (en russe). *Roussky wratsh.*, 1912, **8**, 264.
27. SEIDELL (A.). — Colorimetric determination of epinephrine in dessicated suprarenal glands. *J. Biol. Chem.*, 1913, **15**, 197.
28. TOUJAN (G.). — Recherches expérimentales sur l'adrénaline. Thèse Méd. Toulouse, 1905.
29. VULPIAN (A.). — Note sur quelques réactions propres à la substance des capsules surrénales. *C. R. Acad. des Sc.*, 1856, **43**, 663.
30. WELLER (G.). — Une nouvelle technique de dosage colorimétrique par l'iode de l'adrénaline. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1933, **15**, 1308.
31. ZANGFROGNINI (A.). — Eine neue kolorimetrische Methode der Adrenalinbestimmung. *Deut. Med. Woch.*, 1909, 1752.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	9
CHAPITRE I. — <i>Etude des méthodes de dosage de l'adrénaline dans les capsules surrénales</i>	11
CHAPITRE II. — <i>Spécificité des réactions colorées de l'adrénaline</i>	30
CHAPITRE III. — <i>Etude comparative de la méthode chimique et de la méthode physiologique de dosage de l'adrénaline</i>	42
CHAPITRE IV. — <i>Quelques recherches sur la formation de l'adrénaline</i> .	49
Glande totale	49
Corticale et médullaire séparées.....	54
CHAPITRE V. — <i>Le taux de l'adrénaline dans les capsules surrénales du chien</i>	60
Adrénaline chez le chien normal.....	60
Taux de l'adrénaline et troubles respiratoires.....	61
A. Chiens soumis à une asphyxie par une oblitération mécanique de la trachée.....	61
B. Chiens soumis à la dépression barométrique.....	63
Taux de l'adrénaline et hyperthermie provoquée.....	66
Syndromes endocriniens.....	68
A. Adrénaline et parathyroïdectomie.....	68
B. Adrénaline et thyroïdectomie	70
C. Adrénaline et dépancréatectomie.....	71
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	74
BIBLIOGRAPHIE	76

